



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LA GÉNESIS DEL CÁNCER VESICAL

Autor:

Fdo: D. Patricio Navarro Medina

Codirector:

Fdo: Dr.D. Octavio Pérez Luzardo

Codirector:

Fdo: Dr.D. Nicolás Chesa Ponce

Director:

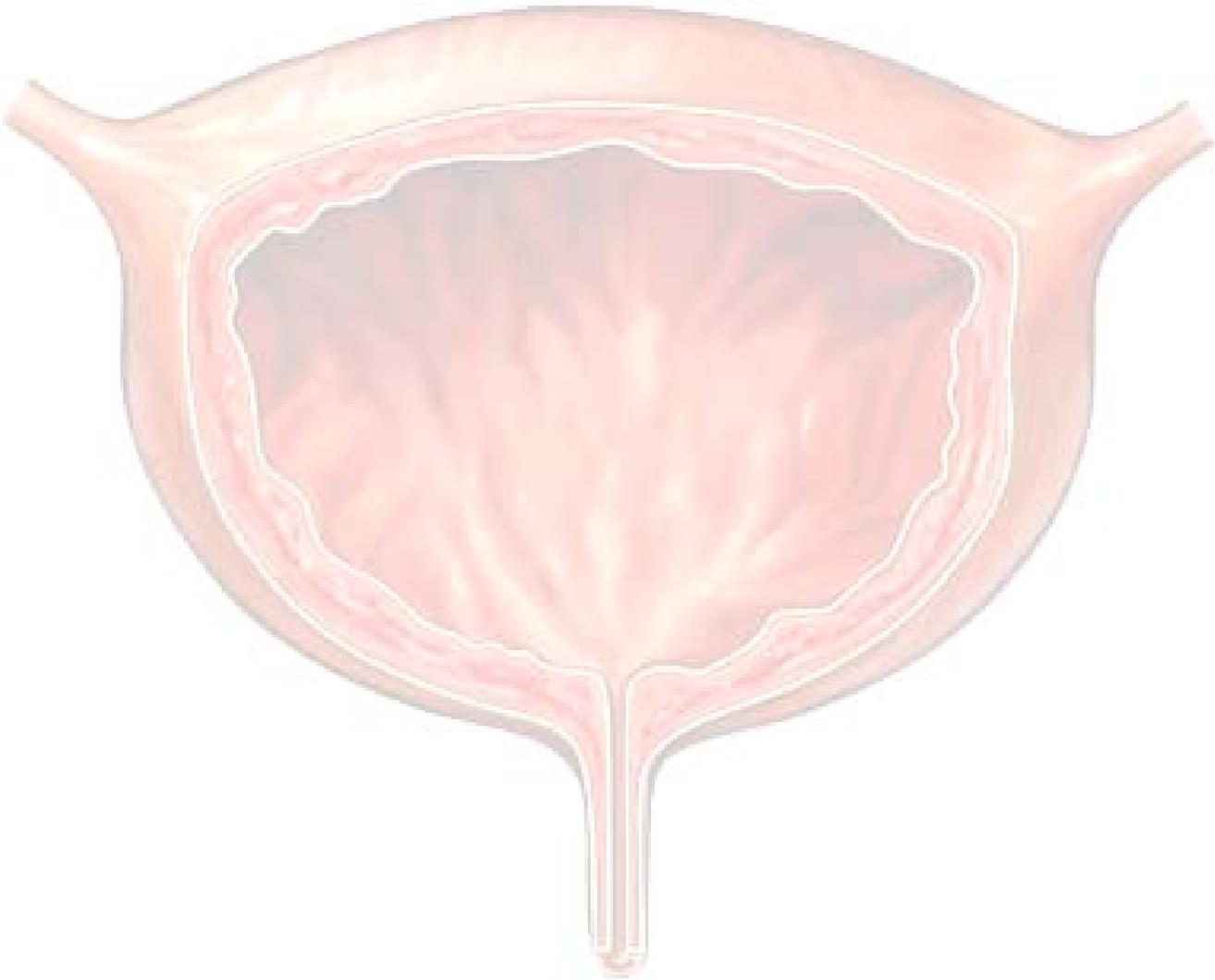
Fdo: Dr.D. Luis Domínguez Boada

Codirector:

Fdo: Dra.Dña. Eva Elisa Alvarez León

Tesis Doctoral

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Programa de Doctorado: Clínica e Investigación Terapéutica.
Departamento de Ciencias Clínicas
Las Palmas de Gran Canaria
Noviembre de 2012





UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LA GÉNESIS DEL CÁNCER VESICAL

Patricio Navarro Medina

Tesis Doctoral

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Departamento de Ciencias Clínicas
Las Palmas de Gran Canaria

Noviembre de 2012



PROGRAMA DE DOCTORADO
CLINICA E INVESTIGACIÓN TERAPÉUTICA
Factores genéticos y ambientales relacionados con la
génesis del Cáncer Vesical.

**Memoria para optar al grado de Doctor por la Universidad de Las Palmas de Gran
Canaria, que presenta el Licenciado**

PATRICIO NAVARRO MEDINA

Director

Dr. Luis Domínguez Boada

Profesor Titular de Toxicología de la ULPGC

Codirectores

Dr. Octavio Pérez Luzardo

Profesor Titular de Toxicología de la ULPGC

Dra. Eva Elisa Álvarez León

Profesora Asociada de Medicina Preventiva de la ULPGC

Dr. Nicolás Chesa Ponce

Profesor Asociado de Urología de la ULPGC

LAS PALMAS DE GRAN CANARIA – NOVIEMBRE 2012



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Ciencias Clínicas

LUIS DOMÍNGUEZ BOADA, PROFESOR TITULAR DE TOXICOLOGÍA DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS, DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado “FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LA GÉNESIS DEL CÁNCER VESICAL”, ha sido realizado por **D. PATRICIO NAVARRO MEDINA**, en el Departamento de Ciencias Clínicas de la Universidad de Las Palmas, bajo su dirección y asesoramiento técnico y científico, y que una vez revisada la presente Memoria, la encuentra apta para su defensa ante el tribunal.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, extiende el presente certificado en Las Palmas de Gran Canaria a dos de noviembre de dos mil doce.

Fdo: Luis Domínguez Boada



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Ciencias Clínicas

OCTAVIO PÉREZ LUZARDO, PROFESOR TITULAR DE TOXICOLOGÍA DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS, DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado “FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LA GÉNESIS DEL CÁNCER VESICAL”, ha sido realizado por **D. PATRICIO NAVARRO MEDINA**, en el Departamento de Ciencias Clínicas de la Universidad de Las Palmas, bajo su codirección y asesoramiento técnico y científico, y que una vez revisada la presente Memoria, la encuentra apta para su defensa ante el tribunal.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, extiende el presente certificado en Las Palmas de Gran Canaria a dos de noviembre de dos mil doce.

Fdo: Octavio Pérez Luzardo



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Ciencias Clínicas

EVA ELISA ALVAREZ LEÓN, PROFESORA ASOCIADA DE MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS, DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado “FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LA GÉNESIS DEL CÁNCER VESICAL”, ha sido realizado por **D. PATRICIO NAVARRO MEDINA**, en el Departamento de Ciencias Clínicas de la Universidad de Las Palmas, bajo su codirección y asesoramiento técnico y científico, y que una vez revisada la presente Memoria, la encuentra apta para su defensa ante el tribunal.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, extiende el presente certificado en Las Palmas de Gran Canaria a dos de noviembre de dos mil doce.

Fdo: Eva Elisa Álvarez León



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Ciencias Clínicas

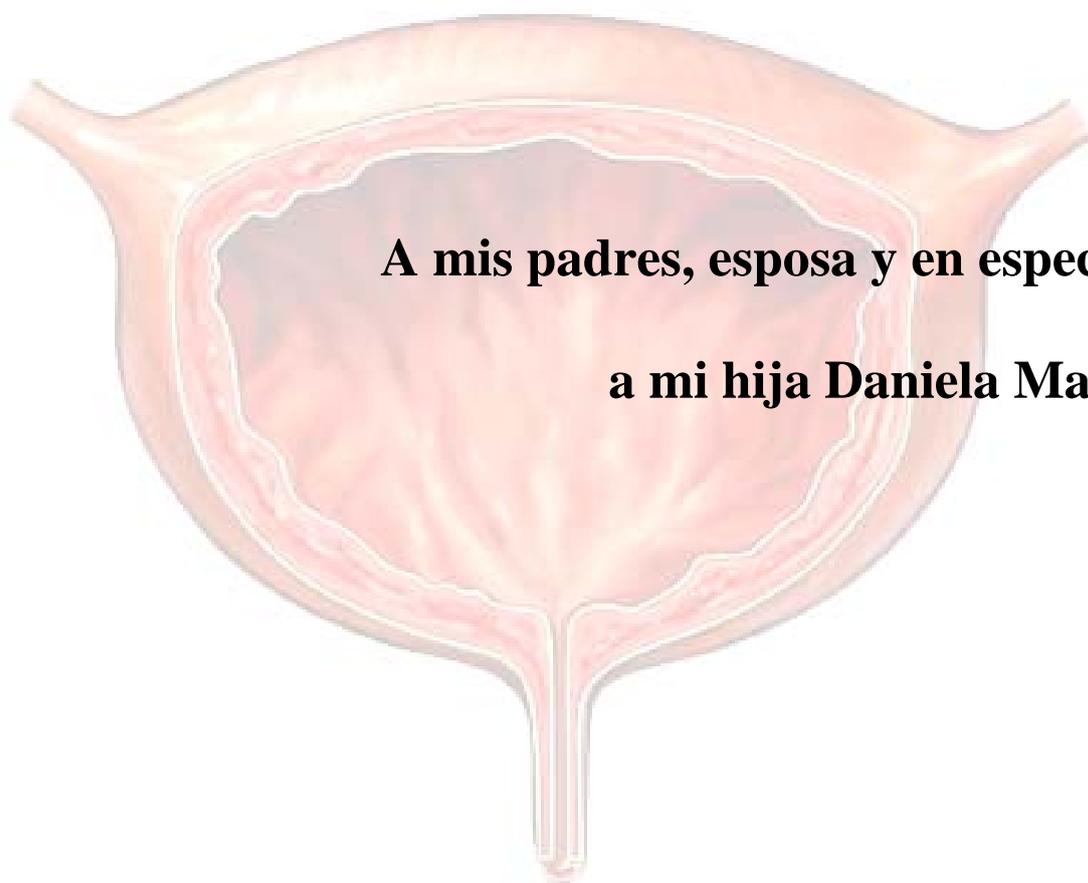
**NICOLÁS CHESA PONCE, PROFESOR ASOCIADO DE UROLOGÍA DEL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS, DE LA
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA**

CERTIFICA:

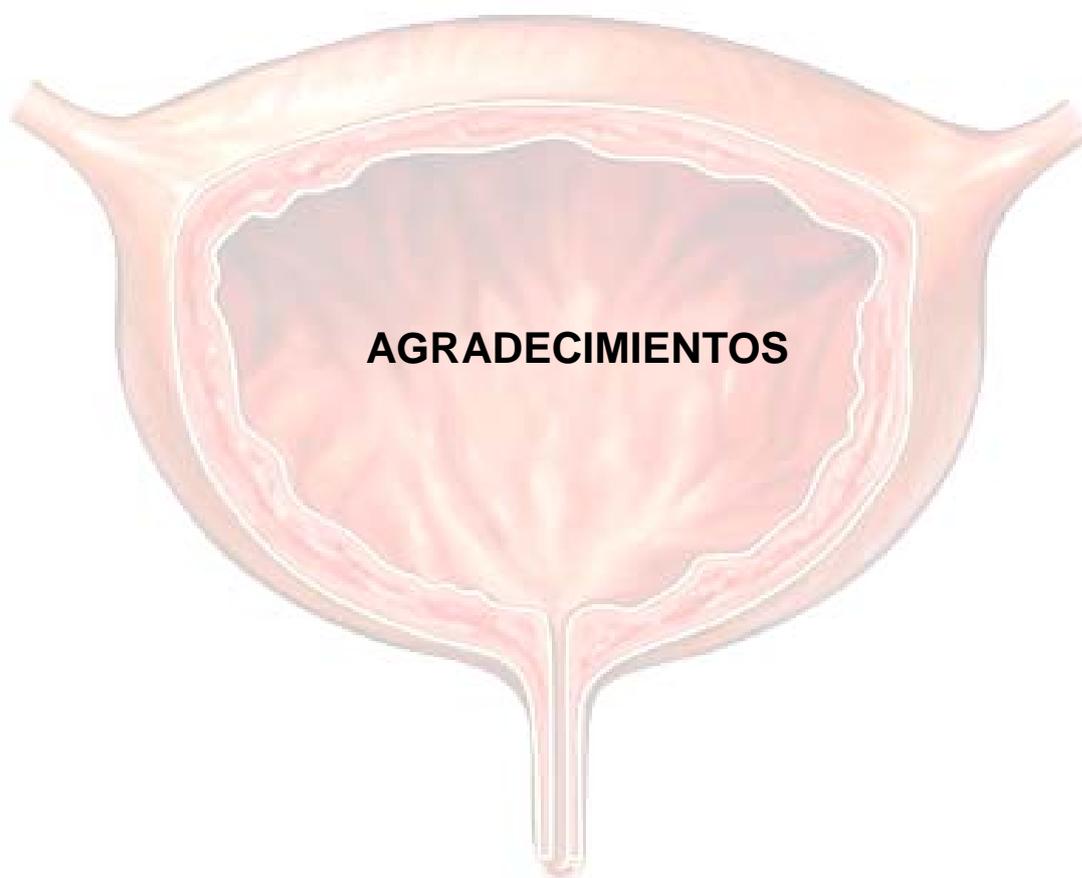
Que el trabajo de investigación titulado “FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LA GÉNESIS DEL CÁNCER VESICAL”, ha sido realizado por **D. PATRICIO NAVARRO MEDINA**, en el Departamento de Ciencias Clínicas de la Universidad de Las Palmas, bajo su codirección y asesoramiento técnico y científico, y que una vez revisada la presente Memoria, la encuentra apta para su defensa ante el tribunal.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, extiende el presente certificado en Las Palmas de Gran Canaria a dos de noviembre de dos mil doce.

Fdo: **Nicolás Chesa Ponce**



**A mis padres, esposa y en especial,
a mi hija Daniela María.**



AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Y después de cinco años, ¡la tesis llegó a su fin! Sin duda alguna, llegar a este punto no hubiera sido posible sin la estrecha colaboración de mucha gente fenomenal que, tanto desde dentro como fuera del ámbito laboral, han puesto su granito de arena en la realización de este proyecto. Y aunque resulta muy difícil expresar mi agradecimiento en palabras, ¡GRACIAS A TODOS! Y más concretamente...

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a los verdaderos artífices de este trabajo, los directores de esta tesis: Dr. D. Luis Domínguez Boada, Dr. D. Octavio Pérez Luzardo, Dr. D. Nicolás Chesa Ponce y Dra. Dña. Eva Elisa Álvarez León, por haberme acogido entre los suyos y el haber podido contar con ellos para llevar a cabo este trabajo de investigación.

A la persona que me inició en el mundo de la investigación, curiosidad, de la búsqueda de alguna respuesta para mis pacientes. A quién me enseñó que sólo estudiando puedo ayudar a mis enfermos, a mi querido Dr. D. José Luis Pérez Arellano.

Mi especial agradecimiento a la Dra. Dña. Maira Almeida González y al Dr. D. Luis Alberto Henríquez Hernández por su magnífico comportamiento, estrecha colaboración, gran profesionalidad y enorme dedicación en innumerables momentos imprescindibles para la culminación de esta tesis.

A todos los integrantes de la Unidad de Toxicología del Departamento de Ciencias Clínicas de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria; nunca obtuve un “no” por respuesta.

A todos los miembros del Servicio de Urología del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil (C.H.U.I.M.I.) de Gran Canaria. Jefe del

Servicio, Jefe de Sección, adjuntos, residentes, enfermeras, auxiliares, a todos: muchas gracias.

A mis compañeras Dña. Carmen, Dña. Margarita, D. Juanjo, Dña. Loli, Dña. Mercedes y Dña. Toñi de la Unidad de Pruebas Funcionales de Urología por su desinteresada dedicación.

A mi hija Daniela María, por ser el motor de mi vida.

A mis padres, por estar siempre pendientes de mí.

A mi esposa Laura, por saber oírme y comprenderme.

A mi hermano Rayco, por esos centenares de horas de estudio acompañado, por su ayuda, cariño y comprensión.

A mis amigos Roberto Hernández, David Batista y Carlos Montesdeoca, por su inestimable colaboración logística, informática y su generosidad.

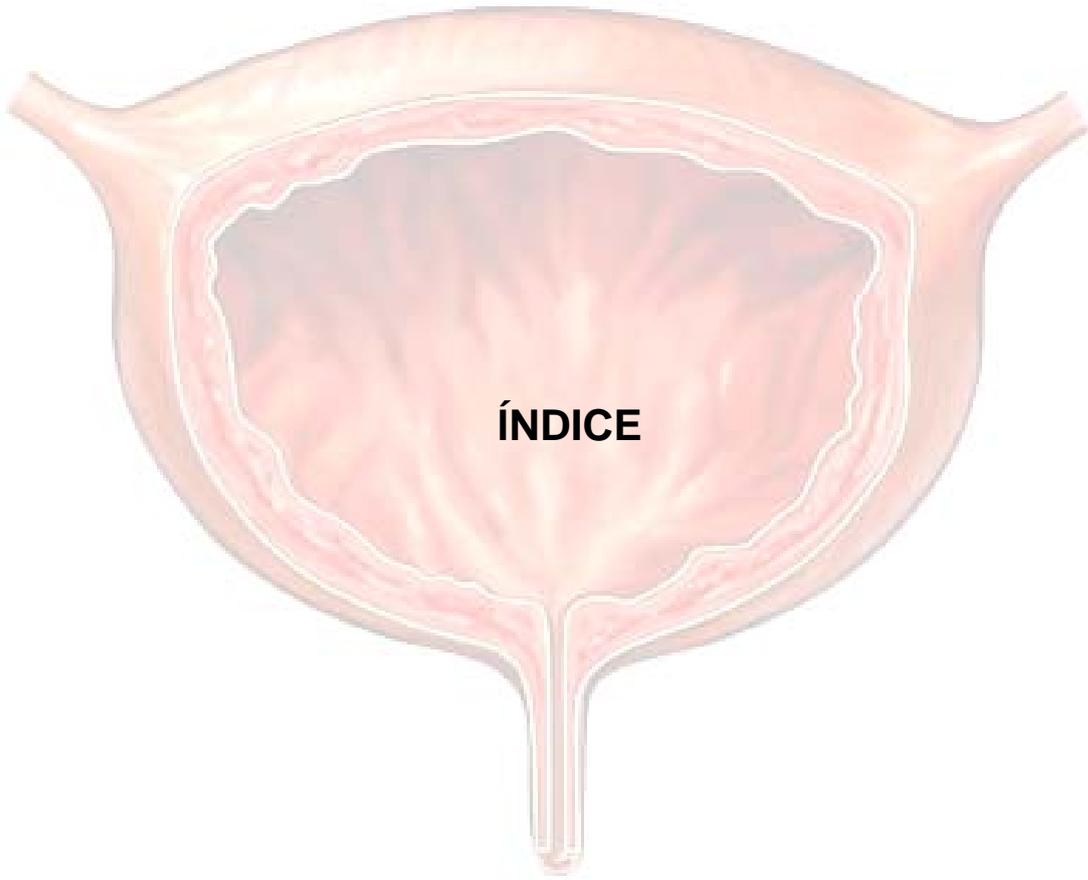
Al Cheri, porque supiste imprimirme la ilusión por la medicina, muchas gracias.

Gracias a ti, también.

A la Sociedad Canaria de Urología, Colegio Oficial de Médicos de Las Palmas, Instituto Canario de Investigación del Cáncer (ICIC) y a la Fundación Canaria de Investigación y Salud (FUNCIS), por sus becas y ayudas, sin cuya colaboración este proyecto hubiese sido imposible.

Por último, a los pacientes, quienes son los verdaderos protagonistas de este trabajo, y sin los cuales todo habría sido diferente.

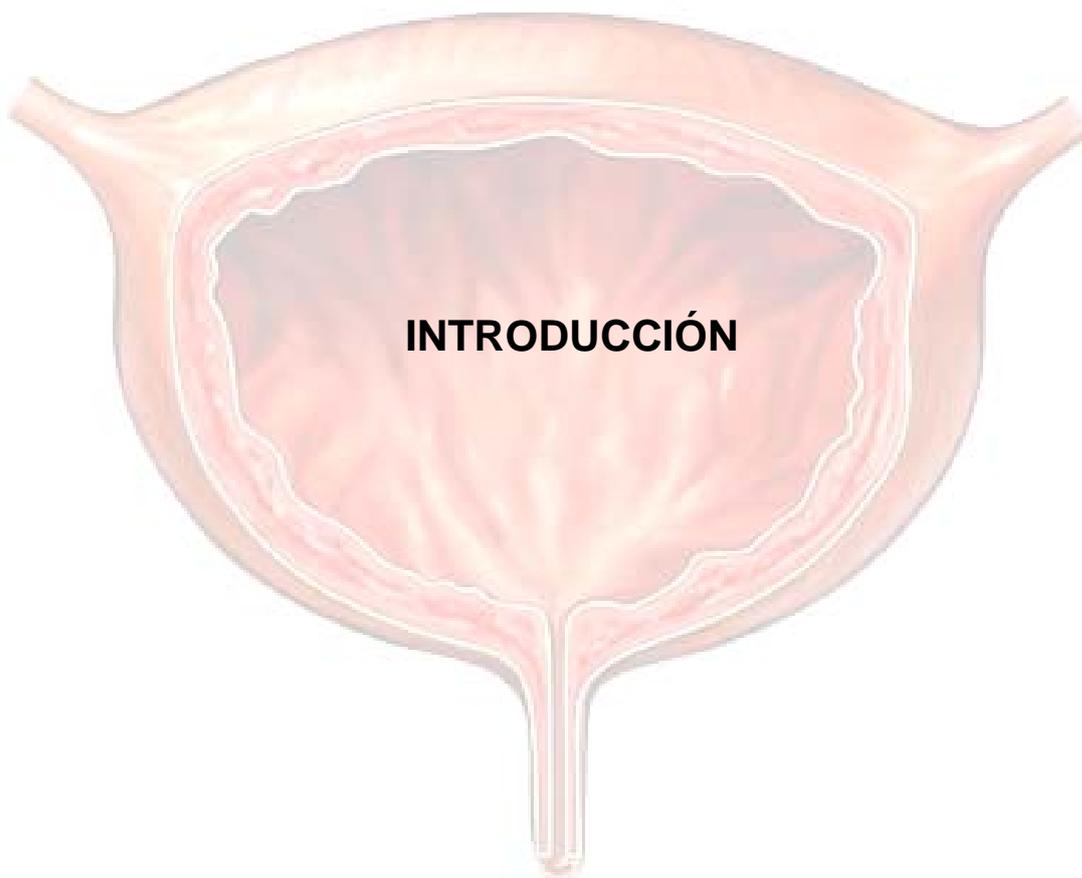
Gracias por ayudarme a realizar el sueño de ser Doctor en Medicina.



INDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN _____	1
1. El tracto urinario _____	3
2. El cáncer vesical _____	5
3. El cáncer vesical: presentación clínica, tipos y clasificación _____	6
a. Según el patrón de crecimiento _____	7
b. Según el tipo histológico _____	7
i. Estadio _____	8
ii. Grado _____	9
4. El cáncer vesical: epidemiología _____	11
5. El cáncer vesical: factores de riesgo	
a. Generalidades _____	16
b. Edad, sexo, raza y hábitat _____	18
c. Tabaco _____	18
d. Dieta _____	20
e. Variables antropométricas _____	23
f. Factores de crecimiento celular. Insulin-like growth factor-1 ____	23
g. Ocupación laboral _____	29
h. Exposición a contaminantes a través del ambiente laboral y/o tabaco y/o dieta: hidrocarburos aromáticos policíclicos(PAHs) _	32
i. <i>Exposición a contaminantes de origen industrial a través del ambiente laboral y/o tabaco y/o dieta: bifenilos policlorados (PCBs)</i> _____	40
j. <i>Exposición a contaminantes de origen agrícola a través del ambiente laboral y/o dieta: plaguicidas organoclorados(OCs)</i> _	45
k. <i>Otros factores de riesgo</i> _____	60
6. Factores genéticos asociados al cáncer de vejiga _____	61
JUSTIFICACIÓN _____	66
OBJETIVOS _____	75
MATERIAL Y MÉTODOS _____	78
1. Sujetos del estudio	
a. Universo del estudio _____	80
b. Selección de casos _____	80
c. Selección de controles _____	81
2. Diseño _____	83
3. Variables	
a. Variables demográficas _____	85
b. Factores de riesgo _____	89

	Pág.
c. Variables clínicas (sólo entre los casos) _____	93
i. Tratamiento de los pacientes _____	93
d. Variables analíticas _____	95
i. Análisis de los niveles de contaminantes ambientales (plaguicidas organoclorados, bifenilos policlorados hidrocarburos aromáticos policíclicos) en suero _____	96
ii. <i>Factor de crecimiento dependiente de insulina tipo I (IGF-I)</i> <i>proteína transportadora tipo 3 del factor de crecimiento</i> <i>dependiente de insulina (IGFBP-3)</i> _____	100
e. Variables genéticas _____	101
f. Análisis estadístico _____	103
g. Dificultades y limitaciones del estudio _____	105
 RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	 106
1. Características de los sujetos incluidos _____	107
2. Variables antropométricas y cáncer de vejiga _____	111
3. Factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) _____	114
4. La profesión y cáncer vesical _____	119
5. Hábito tabáquico _____	125
6. Consumo de bebidas y cáncer vesical _____	134
7. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) y cáncer vesical _____	137
8. Plaguicidas organoclorados (OCs) y cáncer vesical _____	149
9. Bifenilos policlorados (PCBs) y cáncer vesical _____	161
10. Variables hereditarias y cáncer vesical _____	171
11. Polimorfismos genéticos y cáncer vesical _____	173
 CONCLUSIONES _____	 188
 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	 194
 ANEXOS _____	 222
1. ANEXO I.: Aprobado comité de ética _____	224
2. ANEXO II: Hoja de recogida de datos _____	228
3. ANEXO III: Lista hidrocarburos aromáticos policíclicos, organoclorados y bifenilos policlorados _____	236
4. ANEXO IV _____	241



1. EL TRACTO URINARIO

El sistema urinario humano se compone fundamentalmente de dos partes: los órganos secretores (riñones) que se encargan de producir la orina, y el tracto urinario o vías excretoras (pelvis renales, uréteres, vejiga urinaria y uretra) que básicamente conducen y almacenan la orina para que posteriormente sea evacuada al exterior. De entre los componentes del tracto urinario, las pelvis renales y los uréteres constituyen el tracto urinario superior (TUS), mientras que la vejiga y la uretra forman el tracto urinario inferior.

Todo el tracto urinario comparte una estructura histológica similar, la cual está compuesta básicamente por tres capas:

-Urotelio o epitelio de células transicionales: formado habitualmente por seis capas que se agrupan en tres tipos celulares: las células basales (localizadas en la base del urotelio), las células poliédricas (situadas sobre las basales) que se organizan en un número variable de capas dependiendo de la zona del tracto urinario de la que se trate, y las células de superficie o “en paraguas” (las más superficiales) que son células aplanadas de gran tamaño. Además de estos tres tipos celulares, a lo largo del urotelio pueden encontrarse de manera normal nidos de Brunn y focos dispersos de metaplasia escamosa o glandular. Se trata de un epitelio estratificado formado por un número variable de capas de células (entre 2 y 6) dispuestas de un modo un tanto irregular. Reviste los tractos urinarios, desde los cálices renales (con dos capas celulares) hasta la uretra (con 4 a 5 capas), pasando por la vejiga urinaria (hasta 6 capas celulares). Es un epitelio impermeable a las sales y al agua por lo que forma una barrera osmótica entre la orina y los líquidos intersticiales. Tiene gran capacidad de distensión, demostrable con el llenado de la vejiga urinaria, gracias a que las células de las capas superficiales se aplanan por estiramiento, tomando aspecto de epitelio escamoso. Esta capacidad deriva de las características especiales de las células más superficiales que presentan zonas de mayor grosor en su parte apical denominadas placas. Estas placas están separadas por unas franjas más delgadas, dándole un aspecto rugoso a la porción apical de la célula sobre todo

cuando la vejiga se vacía (Figura 1). Algunas de las células más superficiales de este epitelio son binucleadas (Figura 1). En la parte basal del epitelio, las células son menos voluminosas y más numerosas, creciendo en tamaño a medida que nos aproximamos a la zona apical. No existen interdigitaciones desde el tejido conectivo similares a las que normalmente se encuentran en los epitelios estratificados, siendo en este caso el límite epitelio-conectivo prácticamente plano. Como en el resto de los epitelios, en dicho límite existe una matriz extracelular especializada denominada lámina basal o lámina propia.

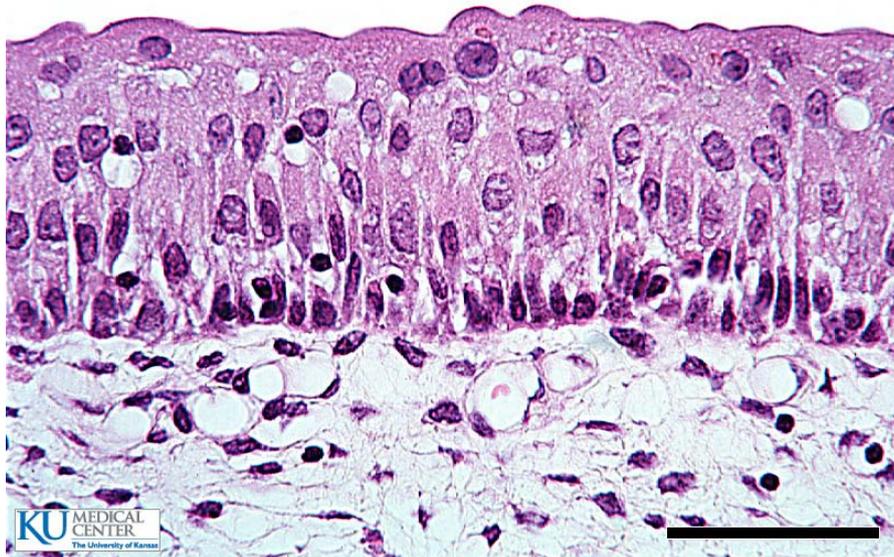


Figura 1. Imagen histológica del epitelio de transición, que recubre la práctica totalidad del tracto urinario. (Fuente: www.kumc.edu).

-Lámina propia: es la capa sobre la que descansa el urotelio. Consiste en una capa de tejido conectivo fibroelástico relativamente gruesa que permite una distensión considerable. Esta capa es atravesada por numerosos vasos sanguíneos y contiene fibras de músculo liso.

-Capa muscular: está formada por haces de músculo liso que se ramifican y entrelazan de manera laxa configurando tres capas: la longitudinal externa, la circular media y la longitudinal interna. Esta malla muscular es responsable del peristaltismo del tracto urinario y permite el vaciado de la vejiga. La estructura y

composición de esta musculatura varía ligeramente a lo largo del tracto urinario así como en función del sexo.

Externa a la capa muscular se encuentra una capa de grasa perivesical.

La irrigación sanguínea de la vejiga se realiza a través de arterias originadas de la arteria ilíaca interna. Las venas que surgen de la vejiga desembocan también en la vena ilíaca interna. A nivel linfático, la mayor parte del drenaje pasa a los ganglios linfáticos ilíacos externos, aunque también existe drenaje a los ganglios obturadores, ilíacos internos y comunes. Finalmente, la inervación de la vejiga corresponde tanto al sistema nervioso simpático como al parasimpático.

2. EL CÁNCER VESICAL

El carcinoma urotelial (CU), también llamado carcinoma de células transicionales, es una enfermedad neoplásica que se origina en el urotelio. La localización más frecuente del CU es la vejiga (>90%), aunque puede aparecer en cualquier nivel del tracto urinario (el 5% de los casos aparecen en el TUS y 1% en la uretra).

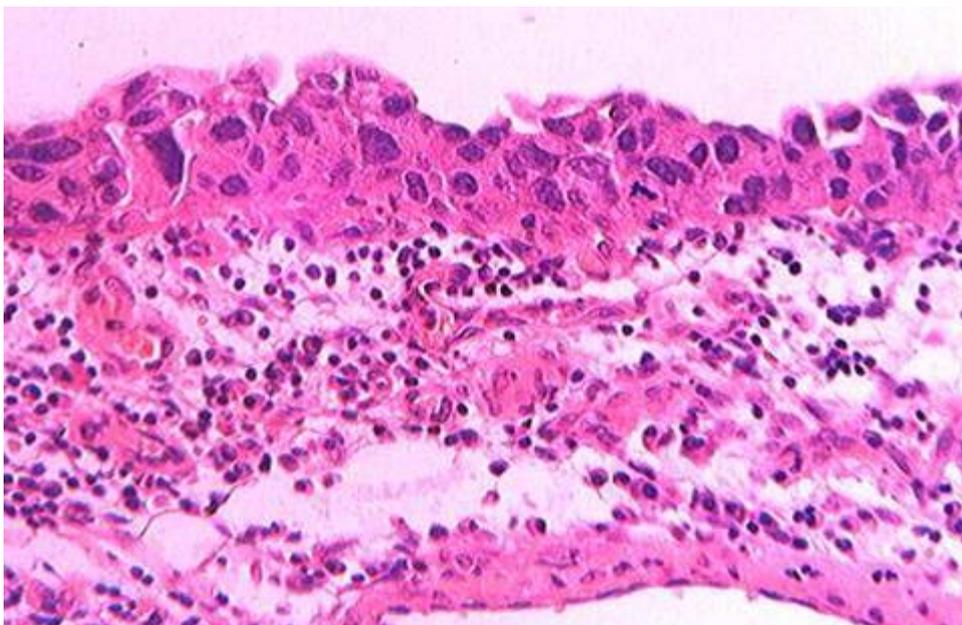


Figura 2. Imagen histológica de un carcinoma urotelial in situ (Fuente: www.uropatologia.com).

3. EL CÁNCER VESICAL: PRESENTACIÓN CLÍNICA, TIPOS Y CLASIFICACIÓN

Aproximadamente el 75% de los CUs se diagnostican inicialmente como no músculo-infiltrantes. Desafortunadamente, estos tumores están caracterizados por unos índices de recurrencia en la vejiga que oscilan entre el 60 y el 85%, una vez que el tumor primario ha sido tratado. Además, entre un 15-30% de los CU no músculo-infiltrantes progresarán a infiltrar la capa muscular, hecho que empeorará mucho el pronóstico del paciente (Amira y cols. 2002). Así, tanto la naturaleza insidiosa de estos tumores como su variable manifestación clínica han llevado a la mayoría de profesionales clínicos a minimizar la agresividad terapéutica a la hora del seguimiento y el tratamiento, pensando en la calidad de vida del paciente (Fernando y cols. 2005)

Según el patrón de crecimiento, el CU puede ser de varios tipos:

- **Papilar:** este patrón aparece en un 75-80% de los CUs. Los tumores papilares se caracterizan por presentar, tal y como su nombre indica, papilas, que consisten en prolongaciones tapizadas por células uroteliales que contienen un estroma fibrovascular en su interior. Tienden a ser lesiones multifocales y a recurrir. Este patrón de crecimiento también es característico de una forma benigna de cáncer vesical llamada papiloma, que representa el 2,5% de todos los tumores papilares de la vejiga. En este caso las papilas están formadas por un eje fibroconjuntivo vascular revestido de un epitelio de células transicionales normales.

- **Sólido:** este patrón se da aproximadamente en el 10% de los CUs. Supone una lesión formada por islotes celulares que contienen grandes núcleos hipercromáticos. La presencia de este patrón implica un mal pronóstico de la enfermedad.

- **Mixto:** aparece en el 20% de CUs. Los tumores con este patrón de

crecimiento presentan características papilares y sólidas al mismo tiempo.

□ **Plano:** al CU con este patrón de crecimiento se le confiere una identidad propia, de manera que pasa a llamarse carcinoma *in situ* (CIS o Tis). Queda limitado al urotelio y tiene una elevada capacidad invasiva y metastásica. Puede presentarse asociado a lesiones papilares.

A nivel histológico, el CU se clasifica teniendo en cuenta básicamente dos aspectos: el estadio de invasión del tumor en las capas del tracto urinario y el grado de dediferenciación celular. A continuación se explica más detalladamente cada uno de estos aspectos (Wittekind y cols. 2002).

Estadio. Clasificación TNM de tumores malignos (TNM Classification of Malignant Tumours), 6ª edición, 2004. Clasificación utilizada en la actual tesis doctoral.

El **estadio** indica el nivel de extensión del tumor entre las capas del tracto urinario e incluso si alcanza otros órganos. El sistema para clasificarlo se denomina TNM (del inglés, *Tumor, Node, Metastasis*) y hace referencia a los siguientes parámetros:

- **T:** indica el grado de infiltración del tumor en las capas del tracto urinario.
- **N:** indica la presencia o ausencia de células tumorales en los ganglios linfáticos regionales.
- **M:** informa de la presencia o ausencia de metástasis a distancia.

T: Tumor primario

Tx, No se puede evaluar el tumor

T0, No hay evidencia de tumor

Tis, Carcinoma *in situ*: "tumor plano"

Ta, Carcinoma papilar no infiltrante

- T1**, Tumor que invade el tejido conjuntivo subepitelial
- T2**, Tumor que invade la capa muscular
- T2a**, Tumor que invade la capa muscular superficial (mitad interna)
- T2b**, Tumor que invade la capa muscular profunda (mitad externa)
- T3**, Tumor que invade la grasa perivesical
- T3a**, Tumor que invade microscópicamente la grasa perivesical
- T3b**, Tumor que invade macroscópicamente (masa extravesical)
- T4**, Tumor que invade cualquiera de las siguientes estructuras: próstata, útero, vagina, pared pélvica o abdominal
- T4a**, Tumor que invade la próstata, el útero o la vagina
- T4b**, Tumor que invade las paredes pélvica o abdominal

N: Ganglios linfáticos regionales

- Nx**, no se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales
- N0**, no se demuestran metástasis ganglionares regionales
- N1**, metástasis a único ganglio linfático, de diámetro máximo \leq a 2 cm
- N2**, metástasis en un único ganglio linfático, de diámetro máximo mayor de 5 cm, o en varios, ninguno de ellos mayor de 5 cm de diámetro máximo
- N3**, metástasis en un ganglio linfático de diámetro máximo mayor de 5 cm

M: Metástasis a distancia

- Mx**, no se puede evaluar las metástasis a distancia
- M0**, no hay metástasis a distancia
- M1**, metástasis a distancia

Estos parámetros pueden evaluarse a partir del tejido extraído en la resección transuretral del tumor (estadiaje clínico) y/o después de la cirugía radical en la que se extirpa la vejiga (estadiaje patológico). Cuando se habla de estadiaje patológico,

a las categorías T, N y M se las denomina pT, pN y pM, respectivamente

Según el estadio, el CU puede recibir diferentes denominaciones. Cuando el tumor no llega a invadir la capa muscular (Tis, Ta y T1), se le denomina comúnmente carcinoma **no músculo-infiltrante** o **tumor no invasivo de la capa muscular** o **superficial** (este último término está en desuso). En cambio, cuando el tumor llega a infiltrar el músculo o las capas exteriores a éste (T2 o más), se le denomina carcinoma **músculo-infiltrante**.

Grado

Los sistemas de gradación de los tumores uroteliales más difundidos y ampliamente aceptados han sido los propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Así, en 1973 se estableció una gradación que se ha estado utilizando durante décadas, la cual clasificaba a los tumores en 4 categorías: papiloma, grado 1, grado 2 y grado 3 (Mostofi y cols. 1984). En esta clasificación, los papilomas fueron definidos como lesiones exofíticas no malignas, formadas por un eje fibroconjuntivo recubierto por un epitelio transicional normal. Por otro lado, las categorías 1, 2 y 3 correspondían a los diferentes grados de anaplasia celular, siendo los tumores con grado 3 los que presentaban un grado de anaplasia más severo, asignándoseles un peor pronóstico de la enfermedad. La anaplasia en esta clasificación se definió por la presencia de células grandes, con irregularidad morfológica, polaridad atípica, presencia de figuras mitóticas anormales y con variaciones en los patrones de cromatina nucleares, entre otras características. Una crítica recurrente de este sistema de gradación fue la definición poco exacta de los puntos de corte entre estos tres grados de malignidad. En 1998, este sistema fue modificado, de manera que la clasificación pasó únicamente a considerar tres grupos de lesiones: **papiloma, lesiones de bajo grado y lesiones de alto grado**. Posteriormente en 2004 la OMS añadió al sistema de 1998 una nueva categoría que incluye las neoplasias uroteliales papilares con bajo potencial de malignidad o **PUNLMP** (del inglés, *papillary urothelial neoplasm of low malignant potencial*).

Mención aparte requiere el **carcinoma *in situ*** (CIS), que puede definirse

como una neoplasia urotelial plana, no invasiva, compuesta por células anaplásicas que reemplazan todo el grosor de la mucosa. El CIS vesical puede ser un proceso focal, en cuyo caso el tratamiento es conservador; o puede ser un proceso difuso o multicéntrico que requiera terapia radical. Es difícil de localizar cistoscópicamente, ya que la mucosa puede parecer normal, pero a veces se ve rojiza (por denudación del epitelio), con un punteado amarillento ligeramente elevado (nidios de von Brunn repletos de células neoplásicas) o aterciopelada (carcinoma in situ" de apariencia pseudopapilar). El significado de la forma primaria no es bien conocido. Puede representar un precursor de enfermedad invasiva de alto grado. En este sentido, Relamed y cols., estimaron que un tercio de los casos evolucionaron hacia carcinoma invasivo, mientras que Murphy encuentra dicha progresión en el 55% de los casos, ocurriendo habitualmente a los 5 años del diagnóstico (Murphy 1992; Melamed y cols. 1993). También podrían significar una forma "exitosa" de adaptación de la vejiga a agentes carcinógenos; en esta línea, Murphy y cols. señalan la escasa proporción de progresión, su lenta evolución y la frecuente asociación de CIS con otras neoplasias vesicales (Murphy 1992).

Finalmente, reseñar que se han utilizado diferentes marcadores tumorales con la intención de diferenciar subtipos de cáncer vesical en relación a su pronóstico y respuesta al tratamiento. Estos marcadores se han usado también para diferenciar grupos tumorales etiológicamente diferentes. El cáncer de vejiga está causado por la acumulación de diferentes alteraciones genéticas y epigenéticas y genes supresores y oncogenes. La alteración de proteínas codificadas por este tipo de genes ha sido estudiada en relación al pronóstico y la respuesta a los tratamientos (genes supresores: p53, Rb, WAF1/p21; oncogenes: FGFR3, BCL-2, c-erbB-2), así como otras proteínas relacionadas con los telómeros y otras proteínas de adhesión (E-caderina). Algunos estudios han propuesto que los tumores vesicales superficial/papilar e invasivo son dos entes diferentes también a nivel molecular (Knowles 1998). Así, la delección del cromosoma 9 es más frecuente en los tumores superficiales/papilares, mientras que las mutaciones en TP53 y el desequilibrio de ligamiento del cromosoma 17 son más frecuentes entre los tumores de alto grado.

Las mutaciones en p53 parecen estar asociadas a un peor pronóstico (Esrig y cols. 1994), aunque la evidencia no está del todo contrastada (Malats y cols. 2005).

4. EL CÁNCER VESICAL: EPIDEMIOLOGÍA

El cáncer vesical es el cáncer más frecuente del tracto urinario. La incidencia varía ampliamente dependiendo de la región geográfica: en los Estados Unidos y Europa occidental se registran las tasas más altas, mientras que los países de la Europa del Este y Asia tienen las tasas más bajas. Es de 2,5 a 10 veces más frecuente en los hombres que en las mujeres (Figura 3). Y supone para los primeros, en los países occidentales, el cuarto cáncer más frecuente (Murta-Nascimento y cols. 2007a).



Figura 3. Incidencia de cáncer de vejiga, estandarizada por la edad y ajustada a la población mundial, entre hombres (A) y mujeres (B) para diferentes países (Adami y cols. 2008).

Es responsable del 2,9% de todas las muertes por cáncer entre los hombres y del 1,5% entre las mujeres. A partir de la década de 1950, la incidencia en los países occidentales ha aumentado un 50% (Silverberg 1987). Aumentando un 33% entre los años 1985 y 2000. Según el Centro Nacional de Epidemiología, entre los años 1997 y 2002 se registraron entre los hombres de la Comunidad Autónoma de Canarias, 202 casos de cáncer de vejiga por cada 100.000 habitantes. Ese número era de 88 para el caso de las mujeres. (Fuente: http://www.isciii.es/htdocs/centros/epidemiologia/epi_cancer.jsp).

La tasa incidencia por esta enfermedad entre los hombres de nuestra Comunidad Autónoma ajustadas con la población europea fue de 32,98/100.000 habitantes para el periodo 1997-2002. Esa tasa fue de 4,15/100.000 habitantes para las mujeres, siendo por tanto la incidencia 7,9 veces superior entre los individuos de sexo masculino. Como se observa en la figura 4, la incidencia de este tipo de tumores ha ido en aumento progresivo también en nuestro país, sobre todo entre los varones.

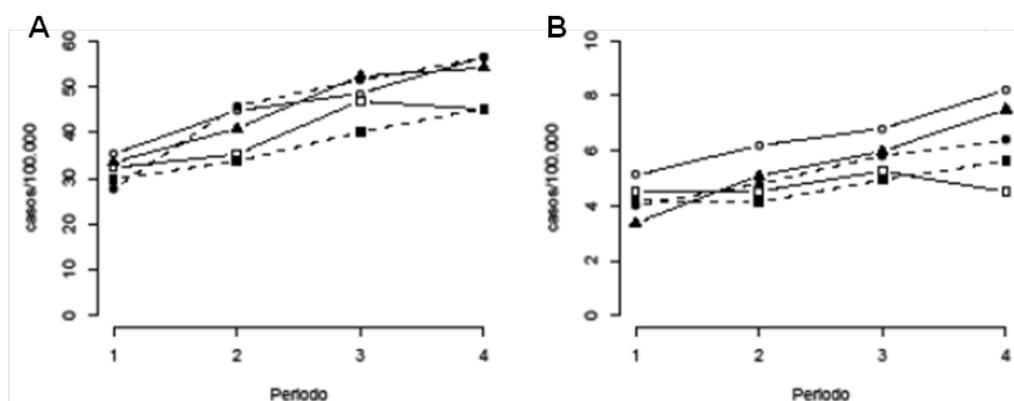


Figura 4. Evolución de las tasas de incidencia de cáncer de vejiga, ajustadas a la población europea, en hombres (A) y en mujeres (B), en los diferentes registros poblacionales españoles. Periodos: 1, 1984-87; 2, 1988-92; 3, 1993-97; y 4, 1998-02. □, Granada; ●, Murcia; ▲, Navarra; ○, Tarragona; ■, Zaragoza. (Fuente: http://www.isciii.es/htdocs/centros/epidemiologia/epi_cancer.jsp).

La supervivencia relativa a los 5 años para el cáncer vesical en adultos europeos diagnosticados entre 1995-1999 (hombres y mujeres) fue del 65% (Berrino

y cols. 2007). Esos datos de supervivencia a 5 años para el mismo periodo en nuestro país ascendían al 77% (Sant y cols. 2009).

La tasa de mortalidad ajustada a la población europea por cáncer de vejiga para los hombres durante el año 2008 (último registro actualizado en el Centro Nacional de Epidemiología) era de 12,52 por cada 100.00 habitantes. La provincia de Las Palmas presentó para ese año una tasa de 12,54/100.000 habitantes (Figura 5).

La tendencia temporal de mortalidad en la provincia de Las Palmas ha ido aumentando progresivamente, mientras que en el territorio nacional, la tendencia ha sido la contraria (Figura 6).

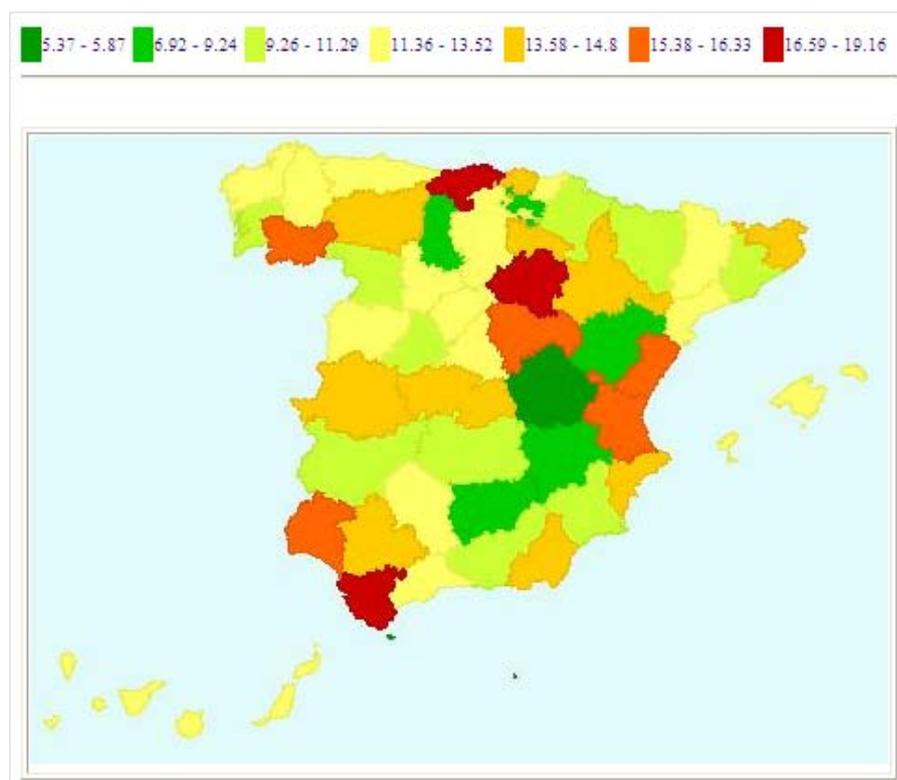


Figura 5. Mapa de mortalidad provincial del cáncer de vejiga entre los varones para el año 2008. La tasa de mortalidad está ajustada a la población europea por cada 100.000 habitantes. Fuente: http://www.isciii.es/htdocs/centros/epidemiologia/epi_servidores.jsp.

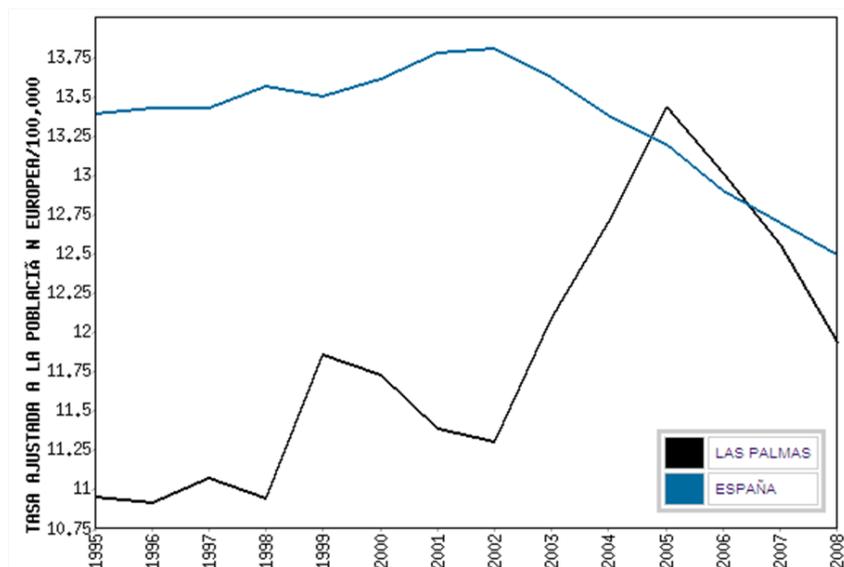


Figura 6. Tendencia temporal de mortalidad por cáncer de vejiga entre los años 1995 y 2008 para la población masculina de la provincia de Las Palmas. Tasa ajustada a la población europea por cada 100.000 habitantes por año. (Fuente http://www.isciii.es/htdocs/centros/epidemiologia/epi_servidores.jsp).

En Gran Canaria, el cáncer de vejiga supuso el 1% del total de las muertes por cáncer, siendo el octavo más frecuente, según datos del año 2010 del Instituto Canario de Estadística. La gran mayoría (93%) son carcinomas de células transicionales (CCT), 2% son carcinomas de células escamosas y 1% son adenocarcinomas.

5. EL CÁNCER VESICAL: FACTORES DE RIESGO

5.1. Generalidades

La incidencia del cáncer de vejiga es mayor entre los países de Europa occidental y América del Norte, y considerablemente menor en los países asiáticos. Estas diferencias pueden ser explicadas parcialmente por las diferentes prácticas para el diagnóstico de tumores superficiales de bajo grado. En general, la incidencia ha ido aumentando paulatinamente en los países industrializados durante la última década, mientras que la mortalidad ha ido decreciendo paulatinamente, sobre todo entre los hombres. Es de destacar que los mayores ratios de mortalidad se detectan

se detectan en cohortes de pacientes nacidos entre 1920 y 1940, que corresponde a las generaciones expuestas con mayor fuerza al tabaco y a carcinógenos industriales. El perfil entre las mujeres es similar aunque menos consistente (Adami y cols. 2008).

5.2. Edad, sexo, raza y hábitat

Las diferencias de incidencia observadas entre hombres y mujeres en la práctica totalidad de países (salvo en algunos países africanos), ha llevado a pensar que el sexo y los factores hormonales asociados podrían ser importantes en esta patología. Las evidencias epidemiológicas son indirectas y limitadas, y en ningún caso adecuadas para sostener esa hipótesis (Hartge y cols. 1990).

La incidencia del cáncer de vejiga aumenta con la edad, tanto entre hombres como entre mujeres por encima de los 50 años (Figuras 7A y 7B). Aproximadamente el 80% de los casos son diagnosticados en mayores de 60 años, siendo la edad media de presentación de 69 años para los varones y de 71 años para las mujeres. El rango de edad de los pacientes con carcinoma de vejiga se extiende desde la primera a la décima década, pero más de dos tercios (80%) están incluidos en el rango de 50 a 79 años, siendo rara la enfermedad antes de los 40 años, con sólo un caso diagnosticado en la primera década de edad, y menos de 100 casos informados en pacientes de 30 o más jóvenes (Adami y cols. 2008). En los países industrializados, el cáncer de vejiga es aproximadamente tres veces más frecuente entre hombres que entre mujeres, debido fundamentalmente a la diferencia relativa al hábito tabáquico (principal factor de riesgo de esta patología).

Afecta fundamentalmente a hombres blancos, siendo más raro entre los asiáticos, los hispanos y los indios y negros americanos. En la mayoría de los grupos raciales, la razón de masculinidad es al menos 3:1, aproximándose a 4:1 entre los blancos (Silverberg 1987). El riesgo de desarrollar la enfermedad a lo largo de la vida es de un 3% entre los varones blancos, de aproximadamente un 1% entre las mujeres

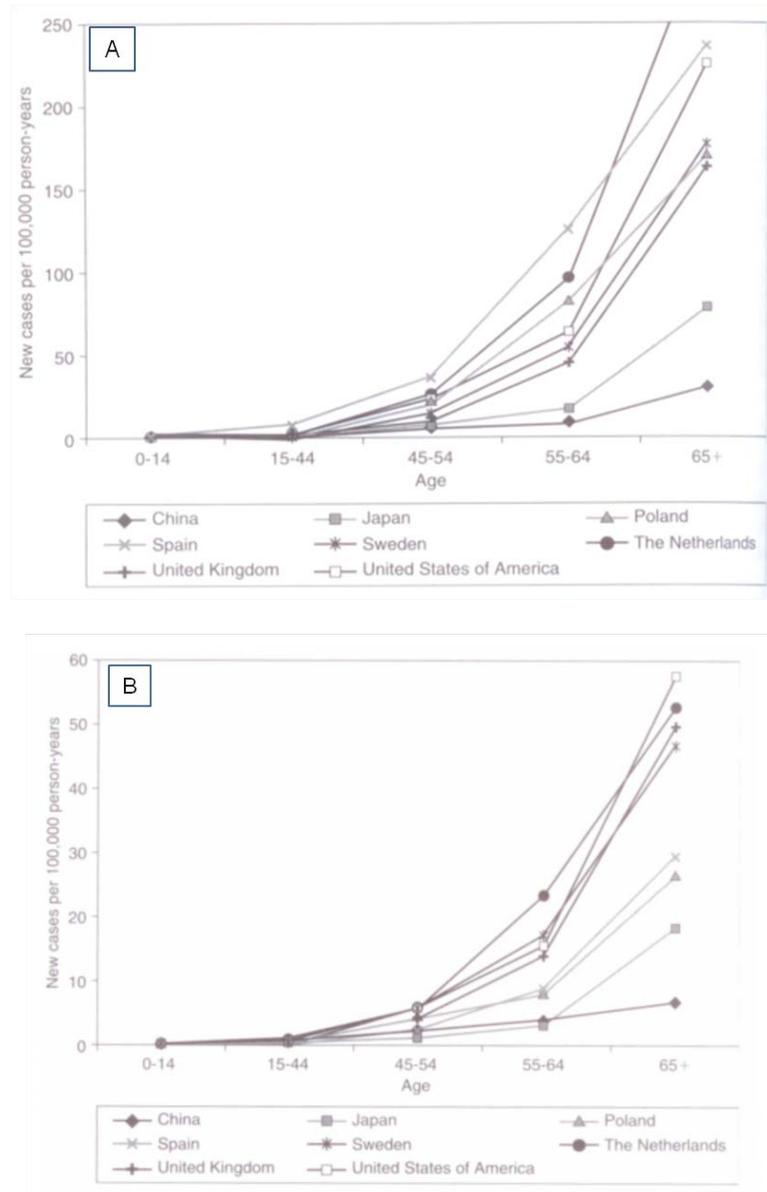


Figura 7. Incidencia edad-específica de cáncer de vejiga entre los hombres (A) y las mujeres (B) según países (Adami y cols. 2008).

blancas y los varones negros y de un 0.5% entre las mujeres negras. El predominio masculino es observado en todos los grupos de edad.

La incidencia es generalmente mayor entre individuos de ambientes urbanos, posiblemente debido a un mayor nivel de exposición a contaminantes, fundamentalmente derivados del petróleo como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) o de origen industrial como dioxinas y bifenilos policlorados

(PCBs), aunque este hecho no está del todo comprobado (Adami y cols. 2008). También se ha observado mayor prevalencia de la enfermedad entre individuos de clases sociales bajas, hecho que se explica posiblemente por los mayores hábitos tabáquicos de estas clases sociales. Además, el tipo de ocupación profesional también suele ser de mayor riesgo (trabajos con mayor componente manual, manipulación de sustancias químicas, etc.). La mortalidad entre esta clase social es también mayor (Adami y cols. 2008).

5.3. Tabaco

El tabaco (fumado en cigarrillo) es la causa más importante de cáncer de vejiga, particularmente entre los hombres. Esta asociación se ha comprobado en muchos estudios de casos y controles. De manera general, todos los estudios ven un aumento del riesgo de sufrir esta patología entre los fumadores. Ese riesgo está en torno a las dos veces si comparamos a los exfumadores y a los no fumadores. Entre los fumadores, en aquellos que consumen más de 20 cigarrillos al día, ese riesgo aumenta hasta unas 5 veces (Adami y cols. 2008). El efecto del tabaco parece ser similar entre hombres y mujeres (Puente y cols. 2006). El riesgo parece ser diferente según el tipo de tabaco consumido, el modo y número de cigarros fumados.

En este sentido, la duración del hábito tabáquico y la edad a la que el individuo se inicia en el hábito tabáquico parecen ser parámetros críticos en relación al riesgo (Doll y cols. 1994; Brennan y cols. 2000). Así, el riesgo aumenta entre aquellos que se iniciaron en el hábito antes de los 20 años. Tanto la edad de inicio, como la duración del hábito o la edad a la que se finaliza, son variables íntimamente relacionadas. Tras dejar de fumar, el riesgo disminuye entre un 20 y un 30% en los primeros 5 años. Algunos estudios han reportado que el riesgo de desarrollo de este tipo de tumores sigue siendo mayor entre exfumadores de más de 20 años que entre los no fumadores (Brennan y cols. 2000; Adami y cols. 2008).

El tabaco rubio es el mayoritariamente consumido en el norte de Europa y Norteamérica, mientras que en el sur de Europa y Suramérica, se consume más tabaco negro. Algunos estudios que han comparado ambos tipos de tabaco han encontrado un mayor riesgo de cáncer de vejiga entre los individuos que consumen tabaco negro (Adami y cols. 2008). El tabaco negro tiene una mayor concentración de aminas aromáticas (4-aminobifenilo, *b*-naftilamina, *o*-toluidina) y otros agentes químicos. Más aún, los fumadores de tabaco negro excretan 1,8 veces más mutágenos en orina que los fumadores de tabaco rubio (Malaveille y cols. 1989). Asimismo, los cigarros sin filtro aumentan entre un 30 y 50% el riesgo de desarrollo de cáncer de vejiga, en comparación con los individuos consumidores de tabaco con filtro (Hartge y cols. 1987; Samanic y cols. 2006; Adami y cols. 2008). A día de hoy, ningún estudio ha demostrado que el riesgo de cáncer de vejiga aumente entre los fumadores pasivos.

En líneas generales puede decirse que existen más de 60 carcinógenos presentes en el humo de cigarrillo. Los carcinógenos potenciales incluyen el 4 -aminobifenilo, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), compuestos nitrosos y aldehídos no saturados (Hoffman y cols. 1969).

5.4. Dieta

Salvo por una ligera asociación protectora entre el consumo de frutas y verduras, no hay demasiadas evidencias científicas acerca del consumo de determinados alimentos como factores de riesgo para el cáncer de vejiga. Las frutas, zumos de frutas y verduras (zanahorias, crucíferas y vegetales verde oscuro) parecen proteger frente a este tipo de tumores. Steinmaus y cols. han reportado un meta-análisis donde encontraron que la baja ingesta de este tipo de alimentos incrementa el riesgo de cáncer de vejiga (RR = 1,4 y 1,2 para frutas y verduras, respectivamente) (Steinmaus y cols. 2000). Parece que este efecto protector es debido al consumo de vitaminas A y C, folatos y carotenos (Knekt y cols. 1990; Michaud y cols. 1999b), si bien existe mucha controversia al respecto (Steinmaus y cols. 2000; Zeegers y cols. 2001b). Los estudios acerca del papel de la vitamina E y

de la ingesta de selenio han reportado resultados inconsistentes (Brinkman y cols. 2006). En resumen, podemos decir que las evidencias protectoras del consumo de frutas y verduras son similares a lo observado en otros tipos tumorales.

Respecto a otros alimentos, hay autores que han sugerido que las dietas bajas en grasa protegen frente al cáncer de vejiga, mientras que el consumo de carne, aves de corral e incluso ciertos pescados parecen incrementar ese riesgo (Steinmaus y cols. 2000). No obstante, los resultados están lejos de ser concluyentes. Tampoco hay evidencias claras para otros grupos de alimentos (productos lácteos) o de macronutrientes (ingesta de proteínas, lípidos, carbohidratos o de calorías) (Adami y cols. 2008).

Se ha estudiado si la forma de cocción de los alimentos puede influir en el riesgo de cáncer de vejiga, ya que las aminas heterocíclicas, potentes mutágenos y carcinógenos en animales, se generan en los asados y los fritos, principalmente. Mientras que algunos autores han reportado un incremento del riesgo de cáncer de vejiga entre los consumidores de alimentos cocinados de esa forma, otros no han encontrado tal asociación (Augustsson y cols. 1999).

Aunque es posible que exista una asociación entre los alimentos y el cáncer de vejiga, no existen evidencias claras acerca de qué alimentos o de qué formas de cocción son las más relacionadas con un incremento de riesgo. En teoría, la presencia de aminas heterocíclicas en contacto con el epitelio de la vejiga, puede aumentar las posibilidades de carcinogénesis, por lo que podría asumirse que el consumo de alimentos asados, al grill o cocinados a altas temperaturas podrían ser una fuente relevante de aminas y PAHs. De hecho, se considera que la dieta contribuye a un porcentaje muy importante de la carga total de PAHs de un adulto occidental (Jedrychowski y cols. 2012).

Finalmente, reseñar que los alimentos modifican el pH de la orina (se acidifica por el consumo de queso y carne y se basifica por el consumo de frutas y verduras), y que tal efecto en un momento dado puede aumentar la agresión de la orina al

epitelio y promover o facilitar procesos de carcinogénesis. Aún con todo, a día de hoy, la potencial relación existente entre cáncer de vejiga y dieta no es clara (Adami y cols. 2008).

Mención aparte merece la potencial relación existente entre el riesgo de cáncer vesical y el consumo de café y té. Desde que en 1971 se reportó la primera asociación entre el consumo de café y el cáncer de vejiga, han sido numerosos los estudios que han intentado comprobar este hecho. En general, la asociación entre ambas variables es débil (Adami y cols. 2008). Un grupo de trabajo de la IARC, en 1991, propuso al café como un posible carcinógeno para el cáncer humano de vejiga urinaria. Tanto la cantidad como el tiempo de consumo parecen ser relevantes para aumentar el riesgo. La principal dificultad a la hora de establecer relaciones claras entre el consumo de café y el cáncer de vejiga, viene dada por la asociación tan íntima que existe entre los consumidores de este tipo de bebidas y el hábito tabáquico. En individuos no fumadores, aquellos con mayores niveles de consumos de café parecen tener mayor riesgo de desarrollo de cáncer vesical (Sala y cols. 2000; Zeegers y cols. 2001d). Respecto al té, las evidencias son todavía menores, considerándose a día de hoy que no existe asociación alguna entre el consumo de té y el cáncer de vejiga (Michaud y cols. 1999a; Zeegers y cols. 2001d). Estudios realizados en animales han mostrado que los compuestos antioxidantes del té, principalmente los polifenoles del té verde, podrían ser protectores del cáncer de vejiga.

De forma similar, el consumo de alcohol y su relación con el cáncer vesical, merece ser tratado en mayor profundidad. De manera general, las evidencias epidemiológicas actuales parecen indicar que no existe asociación alguna entre el consumo de alcohol y el cáncer de vejiga (Adami y cols. 2008). Solo algunos estudios han observado un aumento del riesgo de cáncer de vejiga únicamente entre los hombres, sin que se haya reportado tendencia dosis-respuesta alguna (Zeegers y cols. 2001e). Los resultados, en cualquier caso, son inconsistentes.

Dado que la exposición prolongada del epitelio vesical a los carcinógenos presentes en la orina parece afectar al desarrollo del cáncer vesical, y que el volumen de la orina así como la frecuencia de micción condicionan la concentración de carcinógenos en la orina, hemos de realizar algunos breves comentarios acerca de la relevancia que la ingesta total de fluidos podría tener en el riesgo de cáncer vesical. En contra de lo pensado, algunos estudios han reportado que aquellos individuos con mayores niveles de ingesta de líquidos presentan un ligero aumento del riesgo de sufrir cáncer de vejiga (Arsenault y cols. 1986; Michaud y cols. 1999a; Geoffroy-Perez y cols. 2001). Sin embargo, otros estudios han encontrado un efecto protector. Así, Michaud y cols. describieron en un estudio de cohortes (población masculina norteamericana) que aquellos con ingestas superiores a 240 ml por encima de la media del grupo, presentaban un descenso del riesgo del 7% (Michaud y cols. 1999a) y que aquellos individuos con ingestas de líquidos superiores a los 2.531 ml al día presentaban hasta un 49% menos de riesgo que aquellos que ingerían menos de 1.290 ml de líquidos al día (Michaud y cols. 1999a). El riesgo también va asociado al tipo de agua consumida, siendo únicamente la de abasto la única que parece incrementar el riesgo de sufrir esta patología (Villanueva y cols. 2006). El incremento del riesgo observado en algunos estudios puede ser explicado por el tipo de bebida o por lo que se considera “alta ingesta de líquidos” para los diversos estudios.

5.5. Variables antropométricas

No se han realizado estudios acerca del papel que las medidas antropométricas puedan tener en el cáncer de vejiga (Adami y cols. 2008). Solo se ha estudiado la obesidad en relación al pronóstico, habiéndose observado que aquellos pacientes con cáncer de vejiga y obesidad tienen una peor supervivencia. De hecho, la obesidad supone un importante factor de riesgo para el cáncer, a la que se atribuye entre el 14 y 20% de las muertes causadas por esta enfermedad entre hombres y mujeres, respectivamente (Calle y cols. 2003). Sin embargo, revisiones recientes apuntan la posibilidad de que la mayor altura pueda ser un factor de riesgo para diferentes tipos de patologías tumorales (cáncer colorrectal, de

próstata, mama, sistema nervioso central, piel, endometrio, tiroides y tumores hematopoyéticos) (Batty y cols. 2009). En este sentido, la potencial asociación positiva entre altura y riesgo de cáncer podría ser consecuencia de mayores niveles de hormonas anabólicas como la Hormona del crecimiento (GH) o de sus principales mediadores, los factores de crecimiento celular similares a la insulina (*Insulin-like Growth Factors*; IGF). Hemos de reseñar aquí que niveles elevados de IGF se han relacionado con el desarrollo de ciertos tipos de tumores, entre ellos el vesical (Probst-Hensch y cols. 2003; Zhao y cols. 2003).

5.6. Factores de crecimiento celular mediadores de la acción de la hormona del crecimiento: *Insulin-like growth factor-1 (IGF-I)*

Diferentes estudios epidemiológicos han mostrado un aumento del riesgo de desarrollo de patologías tumorales en aquellos individuos con diabetes, especialmente cáncer de hígado, colorectal, pancreático, de mama, endometrio, riñón y mieloma múltiple (Vigneri y cols. 2009). Estudios recientes han reportado una asociación entre el riesgo de desarrollo de tumores y el uso de terapia insulínica exógena (Currie y cols. 2009; Hemkens y cols. 2009). La asociación entre la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 (T2DM) y el cáncer se explica en parte por la hiperinsulinemia secundaria a la resistencia insulínica y al incremento de los niveles del principal factor de crecimiento insulínico (*Insulin-like growth factor tipo 1*; IGF-I).

En estados hiperinsulínicos, el incremento de los niveles de insulina en la circulación portal produce un aumento de la expresión del receptor de la hormona de crecimiento (GHR), y por tanto, un aumento de la señalización dependiente de este receptor, como el incremento de la producción hepática de IGF-I (Baxter y cols. 1980). Altos niveles de IGF-I se han visto asociados a un aumento del riesgo de desarrollo de cáncer colorectal, cáncer de mama en mujeres premenopáusicas y cáncer de próstata (Chen y cols. 2009; Rinaldi y cols. 2010). Aquellos individuos con niveles de IGF-I superiores a 100 ng/ml presentan un riesgo de muerte asociada a cáncer 1,82 veces superior a aquellos pacientes con niveles circulantes de IGF-I inferiores. Ese riesgo aumentaba hasta 2,61 veces entre los individuos con niveles

séricos de IGF-I superiores a 200 ng/ml, tras más de 18 años de seguimiento (Major y cols. 2010). Altos niveles de IGF-I parecen estar asociados a un aumento del riesgo de desarrollo de determinados tipos tumorales. Este hallazgo supone que aquellos pacientes con resistencia insulínica pueden desarrollar cáncer como consecuencia del aumento de la producción hepática de IGF-I. En modelos animales, la deficiencia de IGF-I provocada por restricción calórica, en ratones deficientes de p53, disminuye la velocidad de crecimiento de cáncer de vejiga. Es más, cepas de ratones transgénicos con deficiencia de IGF-I, presentaban una disminución del crecimiento y de las metástasis de adenocarcinoma colónico inducido por benzoantraceno (Dunn y cols. 1997; Wu y cols. 2002; Wu y cols. 2003b). Y lo que es más interesante, la adición de IGF-I en estos modelos animales experimentales revierte el efecto protector que la deficiencia tenía inicialmente (Dunn y cols. 1997; Wu y cols. 2002).

IGF-I no solo aumenta la velocidad de crecimiento tumoral, también aumenta la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la inducción de la expresión del factor inducible de hipoxia-1 (HIF-1) (Fukuda y cols. 2002; Heron-Milhavet y cols. 2002), conduciendo al desarrollo de neovascularización y metástasis en modelos animales de cáncer de colon con deficiencia de producción de IGF-I (Dunn y cols. 1997; Wu y cols. 2002). En las metástasis inducidas por IGF-I, parece que éste ejerce algún tipo de acción relacionada con la recolocación de integrinas de las células que van a migrar, tal y como se ha observado en células de cáncer de colon y de neuroblastoma (Meyer y cols. 2001; Canonici y cols. 2008). En modelos animales de ratas con cáncer prostático hormono-dependiente, se ha observado que existe un aumento intrínseco de la producción de IGF-I por parte de las células tumorales, lo que lleva a la regulación propia por parte del tumor de su propio crecimiento, con cierta independencia de los niveles de IGF-I existentes en el suero (Wang y cols. 1998).

Algunos tipos tumorales aumentan los niveles de receptores de insulina (IR), y en condiciones de hiperinsulinemia secundaria al aumento de la resistencia insulínica secundaria a T2DM u obesidad, algunos tipos tumorales aumentan

también la activación de las vías de señalización dependientes de IR (Papa y cols. 1990; Novosyadlyy y cols. 2010). Los estados hiperinsulinémicos aumentan los niveles de IGF-I biodisponible mediante la inhibición directa e indirecta de las proteínas que unen IGF-I: insulin-like growth factor binding proteins 1 y 3 (IGFBP-1 e IGFBP-3) (Frystyk y cols. 1995; Grinspoon y cols. 1995). La disminución de los niveles de IGFBP-1 y 3 provoca el aumento de los niveles circulantes de IGF-I que interaccionará con su receptor (receptor para el factor de crecimiento insulínico; IGF-1R) mediando las acciones celulares derivadas, asociadas fundamentalmente a un incremento de la proliferación celular y a una disminución de la apoptosis (Figura 8). Adicionalmente, muchos tipos tumorales sobreexpresan IGF-II, que activa tanto a IGF-1R como a IR. Por tanto, la acción compleja y combinada de IGF-I, IGF-II, IGFBPs y los receptores IR e IGF-1R, sugieren una situación celular compleja no del todo conocida actualmente.

El IGF-1R aparece sobreexpresado en diferentes tipos tumorales. Algunos estudios han demostrado que los niveles circulantes de IGF-I no se correlacionan con la progresión tumoral, mientras que el incremento local de la producción de IGF-I por el tumor, así como el incremento de la expresión de IGF-1R, son factores de peor pronóstico para los procesos cancerosos (Huang y cols. 2008).

A nivel clínico, en pacientes con cáncer de mama, la sobreexpresión de IGF-1R es frecuente y se asocia a la transformación mamaria maligna (Surmacz 2000; Jones y cols. 2009). Más aún, el aumento de la expresión de IGF-1R condiciona el pronóstico de la enfermedad y la respuesta a los tratamientos, en pacientes con cáncer ginecológico y de cabeza y cuello (Lloret y cols. 2007; Lara y cols. 2011).

Todos estos hallazgos han provocado un interés creciente en el desarrollo de fármacos para bloquear a IGF-1R. También se están desarrollando anticuerpos contra IGF-I e IGF-II, con resultados todavía contradictorios, debido a las consecuencias derivadas sobre la activación de otros receptores como el receptor insulínico (IR) (Olmos y cols. 2010; Gao y cols. 2011).

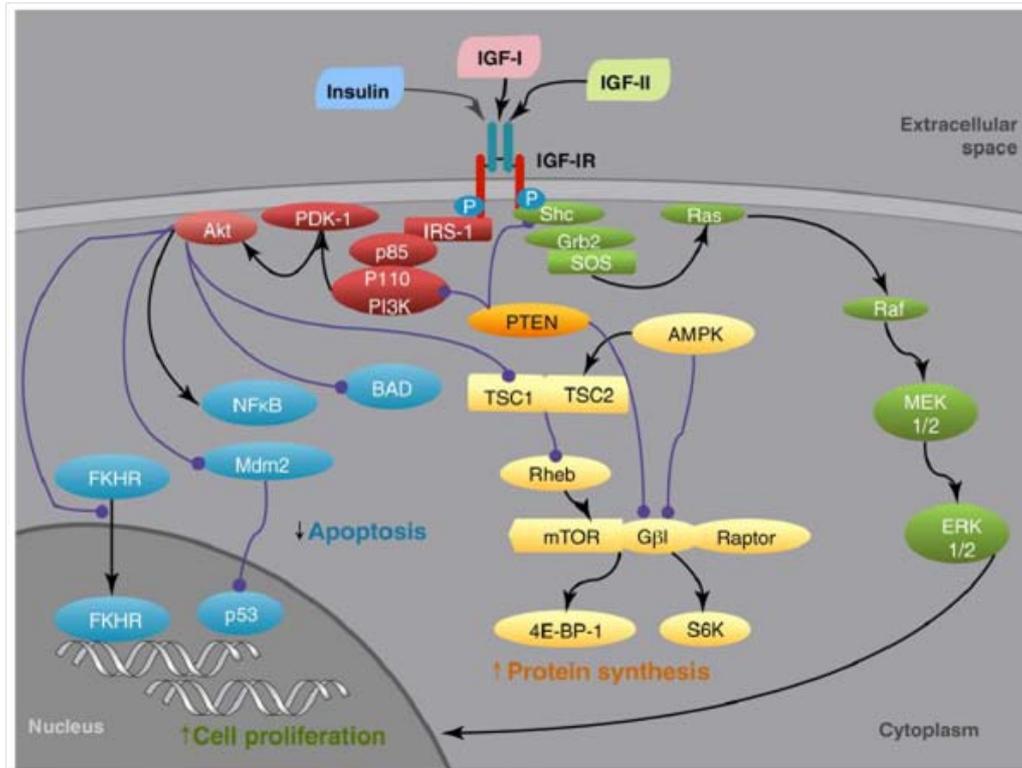


Figura 8. Señalización celular dependiente de la activación de IGF-1R por parte de la insulina, IGF-I e IGF-II (Gallagher y cols.)

El papel de IGF-I también ha sido analizado en el contexto del cáncer vesical, aunque con resultados contradictorios. La mayoría de los estudios hace referencia a los niveles de expresión de IGF-I o a polimorfismos en genes que codifican para la proteína. Son muy pocos los estudios que exploran la asociación de IGF-I circulante en suero con el cáncer vesical. Mahmoud y cols. estudió el papel del IGF-I circulante como factor de riesgo de cáncer vesical, en 51 pacientes y 45 controles de nacionalidad egipcia. A pesar de que encontraron diferencias significativas respecto a los niveles séricos de interleuquina-8, no observaron diferencias estadísticamente significativas respecto a IGF-I (Mahmoud y cols. 2010). Algo parecido había sido anteriormente reportado por otros autores. Así, Serel y cols. concluyeron, en un estudio realizado con 30 casos de cáncer vesical y 30 controles, que los niveles séricos de IGF-I no era un factor predictivo de este tipo de tumor (Serel y cols. 2003). Por su parte, Shariat y cols. llegaron a la misma conclusión en una cohorte de pacientes compuesta por 51 pacientes y 44 controles (Shariat y cols. 2003). Sin

embargo, otros autores sí han publicado una asociación positiva entre los niveles séricos de IGF-I y este tipo tumoral. Zhao y cols. fueron los primeros en reportar que los niveles séricos de IGF-I podrían ser un importante factor de riesgo para el cáncer vesical. El estudio estaba compuesto por 154 pacientes con cáncer de vejiga y 154 controles. Los niveles séricos medios entre los casos fue de 175,8 ng/ml frente a los 153,2 ng/ml detectados entre la población control ($p < 0,01$) (Zhao y cols. 2003). El riesgo relativo asociado a este incremento se estableció en 3,10, con un intervalo de confianza al 95% comprendido entre 1,43 y 6,70. El efecto se incrementaba cuando se estudiaba el papel de IGF-I en combinación con IGFBP-3 (Zhao y cols. 2003). De forma similar, Xie y cols., en una cohorte con 88 casos de cáncer de vejiga y 12 controles, observaron que la expresión de IGF-I era mayor entre los casos que entre los controles (Xie y cols. 2004). Este efecto había sido sugerido previamente por Higuchi y cols., que publicaron un estudio en el que observaron un mayor riesgo de sufrir tumores malignos (incluido el cáncer vesical) entre hombres con acromegalia. A pesar de que el estudio tenía un tamaño muestral pequeño ($n = 44$), los autores concluyeron que IGF-I podría ser importante como factor de riesgo de desarrollo de tumores (Higuchi y cols. 2000).

A día de hoy, y aunque parece claro el papel que IGF-I tiene en el incremento de la proliferación celular y la inhibición de la apoptosis, así como la asociación establecida con otros tipos tumorales, no se puede afirmar que niveles aumentados de IGF-I puedan suponer un factor de riesgo para el cáncer vesical, aunque los estudios publicados a este respecto han sido realizados en cohortes de pacientes con tamaños muestrales reducidos.

No obstante, parece que la expresión génica de IGF-I sí se encuentra asociada al riesgo de desarrollo de cáncer vesical, así como con el comportamiento biológico de este tipo de tumores (Guo y cols. 2011). Guo y cols. han publicado recientemente un pequeño grupo de genes, entre los que está IGF-I, hTERT y BLCA-4, que parece estar diferencialmente expresado en los tumores vesicales de diferentes estadios, y Hursting y cols. han publicado un reciente trabajo en el que sugieren que la sobreexpresión de IGF-I en el urotelio aumenta la sensibilidad de

carcinoma de vejiga inducido por *p*-cresidina en modelos animales (Hursting y cols. 2009). En cualquier caso no son muchos los trabajos publicados a este respecto, por lo que el papel de IGF-I, tanto a nivel sérico como genético, en relación al cáncer vesical, sigue siendo un campo de debate controvertido.

Además se ha de tener en cuenta que, como ya se ha dicho en la introducción de esta tesis, la exposición a sustancias químicas (tabaco) y/o alimentos (café) parecen ser factores relevantes a la hora de evaluar el riesgo de cáncer vesical. De forma similar, los niveles de IGF se ven altamente influenciados por factores dietéticos (Baibas y cols. 2003) y por la exposición a contaminantes ambientales (Tomei y cols. 2004; Boada y cols. 2007; Zumbado y cols. 2010). Todo lo comentado anteriormente llevó a que en este trabajo se estudiara la potencial relación existente entre los niveles de IGF-I y el riesgo de cáncer vesical.

5.7. Ocupación laboral

Tras el tabaco, el desarrollo de determinadas profesiones que implican exposición a contaminantes se ha constituido como el segundo factor de riesgo más importante para el cáncer de vejiga, tanto en hombres como en mujeres.

En cualquier caso, y dada la estrecha relación existente entre el ejercicio de ciertas profesiones que implican la exposición a sustancias químicas y el cáncer de vejiga, se ha de reseñar que la relación entre exposición a agentes químicos y cáncer comenzó en el siglo XVIII cuando Sir Percibal Pott, un cirujano inglés, descubrió una prevalencia anormalmente elevada entre los deshollinadores de cierta edad, de un tipo de tumor maligno en los genitales, que no se daba en otros pacientes que acudían a su consulta. Un siglo más tarde, se describieron tumores similares en trabajadores escoceses que se dedicaban a la producción de parafinas a partir de aceite, y a principios del siglo XX, se mostró que el contacto continuado con aceites y alquitranes a través de la piel conducía a cáncer de piel en algunos grupos de población. Todo ello apuntaba claramente como causa a derivados del petróleo y el carbón, pero los primeros intentos de inducir tumores en ratas y perros

dieron resultados negativos. Hubo que esperar hasta 1915 para que los patólogos japoneses Yamagawa e Ichikawa (1918) dejaran bien establecido, esta vez aplicando el producto en orejas de conejo, que el alquitrán inducía cáncer de piel. A principios del siglo XX algunos investigadores estaban convencidos que los efectos del alquitrán de hulla no estaban tan relacionados con una agresión de tipo mecánico sino con una de tipo químico. Los primeros hidrocarburos obtenidos químicamente puros fueron el benzo(a)antraceno y más tarde el dibenzo(a,h)antraceno que fue el primero en el que se demostró capacidad carcinogénica. En 1933, Cook, Hewett y Hieger aislaron a partir de dos toneladas de alquitrán el principal componente carcinogénico, el benzo(a)pireno, responsable del poder carcinogénico del alquitrán de hulla. Otros investigadores, como Kennaway, hallaron que se podían obtener compuestos carcinógenos similares sometiendo a altas temperaturas y pirólisis no sólo el petróleo, sino también el isopreno y el acetileno, así como el colesterol, las levaduras o el músculo de los animales. Muchos otros hidrocarburos han sido actualmente caracterizados y varios son carcinogénicos cuando han sido probados como compuestos puros en animales de laboratorio. Algunos de estos compuestos, como el benzo(a)antraceno se encuadran en el grupo de los denominados hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) que serán ampliamente comentados en esta Tesis Doctoral.

Los estudios realizados en las décadas de 1980 y 1990 han concluido que algunas profesiones son responsables de un aumento del riesgo de cáncer de vejiga de entre el 4 y el 10% entre los hombres, y algo menor entre las mujeres (Mannetje y cols. 1999; Kogevinas y cols. 2003). Las asociaciones más fuertes se relacionan con la exposición laboral a aminas aromáticas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) y gasolinas de motor. Así, las profesiones de pintor, maquinista, mecánico, trabajadores de la industria metalúrgica, industria textil, industria del cuero y fabricantes de calzado, peluqueros, tintoreros y transportistas se han relacionado con un mayor riesgo de cáncer de vejiga (Adami y cols. 2008). No obstante, los resultados que asocian estas profesiones con esta patología deben tomarse con precaución, ya que pueden ser debido a exposiciones pasadas a sustancias actualmente prohibidas. Así, el riesgo cambia sustancialmente entre aquellos

trabajadores de estas áreas antes y después de la década de 1950 (Kogevinas y cols. 2003).

La asociación entre las aminas aromáticas y el cáncer de vejiga parece estar establecida y comprobada por numerosos estudios durante décadas (Case y cols. 1993; Vineis y cols. 1997; Kogevinas y cols. 1998; Veys 2004), oscilando el aumento del riesgo entre 6 y 90 veces según el estudio. Este tipo de sustancias están presentes en la industria de los colorantes y del plástico, y en menor medida en otras profesiones como la producción de aluminio, peluquería (tintes), pintor o fabricantes de zapatos.

Algunos estudios han identificado la presencia de pequeñas cantidades de aminas carcinogénicas (similares a carcinógenos urinarios conocidos) en los tintes usados en peluquería (Turesky y cols. 2003). Este hecho no se debe despreciar ya que más de un tercio de las mujeres mayores de 18 años de los países desarrollados usan este tipo de productos. Aunque hay algunos estudios que han reportado un aumento del riesgo de cáncer de vejiga entre los usuarios y profesionales de este tipo de sustancias y esta patología (Gago-Dominguez y cols. 2001; Takkouche y cols. 2005), otros no han reproducido esos resultados (Hartge y cols. 1982; Henley y cols. 2001; Kogevinas y cols. 2006).

Otras profesiones se han relacionado a un mayor riesgo de esta patología. Entre ellas cabe destacar la profesión de agricultor. A pesar de que numerosos estudios han tratado de evaluar la potencial relación entre la dedicación a la agricultura y el riesgo de cáncer vesical, tal relación no está suficientemente establecida, encontrándose tanto estudios que indican que tal actividad profesional puede disminuir el riesgo, como estudios que concluyen que la profesión de agricultor debe ser considerada como un factor de riesgo de cáncer vesical (Tabla 1).

En cualquier caso, se deben tener en cuenta las peculiaridades de la actividad agrícola desarrollada en nuestras Islas, con un elevado número de hectáreas

dedicadas a agricultura intensiva. Este tipo de agricultura requiere un uso masivo de productos químicos (plaguicidas), lo que conlleva una elevada exposición a los mismos en el ambiente laboral pero también una elevada contaminación ambiental que puede afectar al conjunto de la población. Estas circunstancias ha obligado a incluir en nuestro estudio un análisis pormenorizado sobre la potencial relación existente entre la profesión de agricultor, la exposición a plaguicidas y el riesgo de cáncer vesical.

Dada la relevancia de la “profesión” como potencial factor de riesgo para el desarrollo de cáncer vesical, tal variable fue ampliamente tenida en cuenta en nuestro estudio.

Tabla 1. Estudios epidemiológicos que han analizado la relación entre Cáncer Vesical y exposición laboral (agricultura)

AUTOR, AÑO	LUGAR	ASOCIACIÓN	Observaciones
Aumenta el riesgo			
(Kabat y cols. 1986)	EEUU	OR: 9,7*	NO FUMADORES
(la Vecchia y cols. 1990a)	Italia	OR: 4,1**	HERBICIDAS
(Burmeister 1981)	EEUU	SMR: 1,14**	
(Viel y cols. 1995)	Italia	OR: 1,14 (1,10-1,24)*	
Disminuye el riesgo			
(Lundsberg y cols. 1997)	EEUU	OR: 0,88 (0,56-0,90)*	
(Vagero y cols. 1986)	Suiza	SIR: 0,64 (0,59-0,69)*	
(Stubbs y cols. 1984)	EEUU	PCMR: 0,60*	
(Forastiere y cols. 1993)	Italia	OR: 0,58 (0,38-0,90)*	FERTILIZANTES
(Wiklund y cols. 1986)	Suecia	OR: 0,49 (0,23-0,78)*	
(Rafnsson y cols. 1988)	Islandia	NR	
(Spinelli y cols. 1990)	UK	OR: 1,7 (1,1-2,6)	

Abreviaturas: OR: Odds ratio; SIR: Ratio de Incidencia Estandarizada; PCMR: Ratio de Mortalidad proporcional por cáncer; SMR: Ratio de Mortalidad Estandarizada; NR, no reportado. * p<0,05 **p<0,01.

5.8. Exposición a contaminantes a través del ambiente laboral y/o tabaco y/o dieta: hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs)

En los apartados anteriores ha quedado claramente establecida la relevancia de los derivados de hidrocarburos, especialmente los hidrocarburos aromáticos policíclicos (*polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAHs), como potencial factor de riesgo de cáncer vesical. Por ello se introdujo en esta Tesis Doctoral la evaluación de la exposición a estos compuestos mediante la cuantificación directa de sus niveles en muestras de sangre de los casos y controles incluidos en nuestro estudio. Este es uno de los pocos trabajos en que la exposición a PAHs se evalúa de forma directa mediante cuantificación en sangre, ya que en general se realiza una evaluación indirecta de la exposición a través de encuestas o cuantificación en orina de metabolitos.

Los PAHs son un grupo de sustancias compuestas por dos o más anillos aromáticos unidos (Figura 9) que se generan cuando materia orgánica que contiene carbono e hidrógeno es expuesta a temperaturas superiores a 700° C, lo que ocurre frecuentemente en procesos pirolíticos y de combustión incompleta. La mayoría de los PAHs vertidos al medio ambiente lo son a la atmósfera, tanto en el caso de las emisiones naturales como de las antropogénicas, siendo estas últimas, predominantes. Los PAHs en la atmósfera están asociados principalmente con partículas, pero también se encuentran compuestos en fase gaseosa. Las principales fuentes naturales de PAHs a la atmósfera son los incendios forestales y los volcanes (WHO 2003).

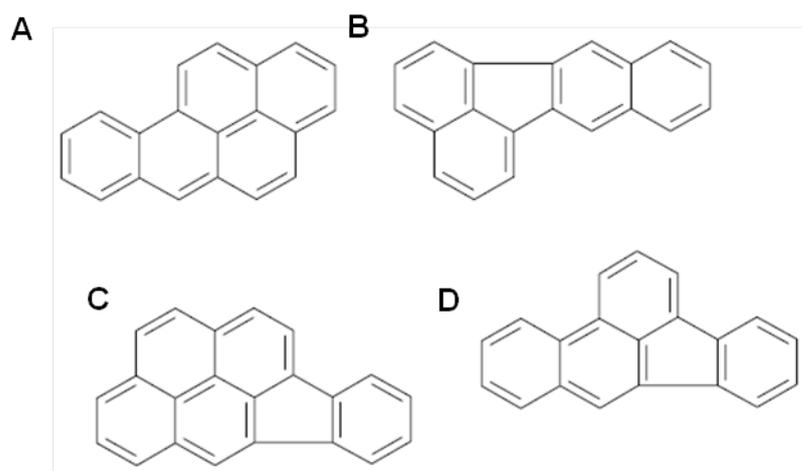


Figura 9. Estructura química de algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos. A, benzo(a)pireno; B, benzo(b)fluoranteno; C, benzo(k)fluoranteno; D, benzo(g,h,i)perileno.

Las principales fuentes antropogénicas son:

- *Tráfico*, el transporte por carretera, así como de otro tipo de vehículos a motor que usen combustibles fósiles, representa una importante fuente de emisión de PAHs ya que además de los constituyentes de éstos, las temperaturas de un motor de combustión son lo suficientemente altas para convertir una fracción del combustible en PAHs vía pirólisis. Se ha estimado que los vehículos de motor representan más de 1/3 del total de emisiones de PAHs a la atmósfera en los Estados Unidos. Debido al tráfico rodado, y como consecuencia del desgaste de los neumáticos, el polvo de la carretera también es una fuente adicional de PAHs (Van Metre 2000).
- *Plantas de producción de aluminio*: representan un proceso industrial históricamente asociado con emisiones y vertidos de PAHs (Naes 1997) .
- *Industria del hierro y acero*: las emisiones proceden fundamentalmente de los procesos térmicos que usan carbón y coque. Los PAHs formados en los procesos de combustión dependen de varios factores, como tipo de

combustible, proceso de manufactura o los dispositivos utilizados para el control de las emisiones. En la literatura, se han descrito relaciones entre ciertos componentes que resultan útiles para distinguir entre las diferentes fuentes. Así, por ejemplo, el benzo(a)pireno es usado como PAH de referencia debido a su estabilidad química y su presencia asociada casi exclusivamente a partículas (Daisey y cols. 1986).

- *Plantas de generación de energía:* Muchas plantas de generación de calor y electricidad (centrales térmicas) queman combustibles fósiles y producen como subproductos residuos líquidos, sólidos y gaseosos que son ricos en PAHs. Estas fuentes, liberan PAHs al medio ambiente por la formación de éstos durante el proceso industrial o bien a través de la pirólisis de los combustibles mencionados para producir energía. Estos PAHs no se degradan en la atmósfera, sino que son adsorbidos sobre las partículas suspendidas en el aire, entrando en los medios acuáticos y terrestres por deposición atmosférica (Calvo-Revuelta y cols. 1999).
- *Incineradoras de residuos industriales y municipales:* La incineración es una valiosa forma de eliminar y reducir residuos pero el principal inconveniente de este proceso es la emisión de compuestos tóxicos, incluyendo los PAHs. Se han descrito en la literatura concentraciones entre cientos y miles de microgramos de PAHs por kilogramo de cenizas, sin embargo hay diferencias importantes entre los diferentes PAHs a considerar.
- *Combustión doméstica:* está bien documentado que la combustión de sólidos, especialmente madera y otro tipo de biomasa, en hornos pequeños y plantas de combustión de tamaño medio, ocasionan emisiones relativamente altas de estos compuestos, debido a las deficientes condiciones de combustión en instalaciones anticuadas.
- *Madera tratada con creosota:* que es el nombre usado para describir una mezcla de unos 200 compuestos químicos, la mayoría de los cuales son

hidrocarburos aromáticos. En zonas de clima templado y cálido, las emisiones de PAHs procedentes del tratamiento de la madera con creosota y alquitrán pueden ser significativas, de hecho España censó en el año 2000, hasta 53.000 m³ de madera creosotada. Durante años, esta sustancia ha sido utilizada como agente de impermeabilización en hogares, traviesas de ferrocarril, postes del tendido eléctrico y telefónico, cercas etc., sin embargo, su uso se ha visto reducido con la entrada en vigor de la Directiva 2001/90/CE y su transposición a la legislación española, por la cual no puede usarse para el tratamiento de la madera.

- *Pintura de barcos, astilleros y estructuras marinas sumergidas:* se ha identificado como fuente de PAHs en ciertas áreas, las pinturas de barco basadas en preparaciones de brea, a pesar de que en muchos países europeos se han dejado de usar este tipo de sistemas y en otros sólo se puede usar en determinadas condiciones.
- *Material dragado:* durante el dragado de sedimentos contaminados, los contaminantes se movilizan y pueden pasar de nuevo a la columna de agua y a la biota.
- *Plataformas petrolíferas en mar abierto:* el agua que producen estas instalaciones contiene PAHs y naftalenos.
- *Navegación y vertidos accidentales de petróleo:* que son consecuencia inevitable del transporte de crudo de petróleo y productos petrolíferos refinados por el mar. Aunque el número de vertidos importantes ocurridos cada año ha descendido desde la década de los 70, vertidos y descargas operacionales constituyen una importante entrada de hidrocarburos al medio marino.

De entre todos los PAHs conocidos, la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) seleccionó 16 de ellos por ser considerados los

más peligrosos y exhibir los efectos más representativos de los PAHs. Además, por su alta presencia en el medioambiente, existe una mayor posibilidad de estar expuesto a alguna de estas 16 sustancias (ATSDR 1995). Los 16 PAHs prioritarios son: acenaftileno, acenafteno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-c,d)pireno, naftaleno, fenantreno y pireno. Todos ellos, con sus diferencias físico-químicas, son considerados lipofílicos (Douben Peter 2003). No obstante, a pesar de su carácter lipofílico, su vida media en el medio ambiente es corta. Se tienen algunos datos de tiempo de vida media de los PAHs basados en experimentos en laboratorio, en los cuales se han simulado las condiciones atmosféricas. Estos tiempos oscilan entre las 0,15 horas del antraceno y las 21,10 horas del benzo(a)pireno. Se estima que en el aire los PAHs se asocian a partículas de hollín, las cuales tienen tiempos de residencia de semanas y están sujetas al transporte a grandes distancias (Ravindra y cols. 2008). No obstante, su carácter lipofílico propicia la entrada de estas sustancias a diferentes compartimentos de la biosfera, donde son capaces de persistir durante periodos muy largos de tiempo, motivo por el cual se considera a los PAHs contaminantes tóxicos persistentes.

Los PAHs se absorben por cualquiera de sus vías de exposición, y debido a su capacidad lipofílica, se facilita su paso a través de las membranas celulares. Estos compuestos son metabolizados principalmente en el hígado y pulmones mediante la activación enzimática de las isoenzimas CYP1A1 y CYP1B1 del citocromo P-450 responsables de la activación metabólica de los PAHs para la formación de derivados epóxidos, que una vez formados pueden ser transformados a dihidrodioles y posteriormente a dioles-epóxidos, o transformarse a fenoles en una reacción catalizada por la enzima epóxido hidrolasa. Los fenoles a su vez son transformados a quinonas y dioles-fenol, que posteriormente reaccionan covalentemente con las moléculas de glutatión y sulfatos mediante reacciones enzimáticas con glutatión-s-transferasa y sulfatasas, formando así complejos orgánicos glucurónidos o sulfónicos que son eliminados del organismo a través de heces y orina (Shimada y cols. 1999; Misaki y cols. 2007; Ruan y cols. 2007).

Al ser compuestos tóxicos, persistentes, hidrofóbicos y que se acumulan en la biota (Meador y cols. 1995) el ser humano puede estar expuesto a ellos por vía dérmica, inhalatoria u oral. A día de hoy se consideran los siguientes mecanismos de acción de los PAHs:

a) Conversión metabólica a intermediarios reactivos electrofílicos que pueden unir covalentemente blancos nucleofílicos en el ADN, ARN y proteínas, por lo que, además de formar aductos en el ADN e inducir mutaciones y eventualmente tumores, los metabolitos reactivos pueden reaccionar con otras células blanco e interferir con la transcripción, replicación del ADN y la síntesis de proteínas. Asimismo, ciertos metabolitos de los PAHs pueden inducir procesos inflamatorios (Bostrom y cols. 2002).

b) Alta afinidad por el *aryl hydrocarbon receptor* (AhR), y la subsecuente sobre-regulación transcripcional de una batería de genes involucrados en la biotransformación, crecimiento y diferenciación celular. La estimulación del crecimiento parece ser el principal componente de promoción en la carcinogénesis química mediada por algunos PAHs (Bostrom y cols. 2002).

c) Efecto inhibitorio sobre la comunicación intercelular (Bostrom y cols. 2002).

Como consecuencia de la existencia de más de 100 PAHs diferentes y de un escaso conocimiento de sus potenciales mecanismos de acción los efectos sobre la salud de los PAHs individuales son limitados y dispares.

Algunos autores han sugerido una asociación entre los niveles de exposición a estas sustancias y el desarrollo cognitivo en niños. El riesgo de presentar déficits en el lenguaje, la lectura y las matemáticas en los primeros años escolares es mayor entre los niños más intensamente expuestos (Perera y cols. 2006).

A nivel inmunológico, está descrito que la exposición a altas concentraciones atmosféricas de benzo(a)pireno ($0,5 \text{ mg/m}^3$) reduce los niveles de las inmunoglobulinas séricas IgG, IgA e IgM. En un estudio realizado en niños residentes en Estados Unidos que estuvieron expuestos en la etapa prenatal a concentraciones de $0,49\text{-}34,48 \text{ ng/m}^3$ de ocho PAHs diferentes, asocian estos niveles de exposición un aumento del riesgo del desarrollo de asma (Perera y cols. 2006).

Como ya se ha dicho, presentan ciertos efectos genotóxicos, esto es, incremento de mutaciones en linfocitos periféricos y formación de aductos en el ADN (Schoket 1999; Tang y cols. 2006). Algunos PAHs son carcinógenos transplacentarios en bioensayos experimentales, por lo que producen tumores en hígado, pulmón, tejido linfático y sistema nervioso. El número de aductos encontrados en madres e hijos expuestos a altas concentraciones de PAHs es mayor; y el peso al nacimiento, así como el diámetro de la cabeza de los niños con mayores niveles de exposición es significativamente menor (Choi y cols. 2006; Tang y cols. 2006). También se han reportado asociaciones entre el daño al ADN y la reducción del crecimiento fetal (Choi y cols. 2006). Según la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (*International Agency for Research on Cancer; IARC*), a día de hoy, hay evidencia suficiente de que algunos PAHs son agentes que pueden relacionarse con el cáncer de pulmón, vejiga y piel (Armstrong y cols. 2004; Ruan y cols. 2007).

Los ocho PAHs que han sido considerados típicamente como posibles o probables carcinógenos son: benzo(a)antraceno, cryseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e indeno(1,2,3-c,d)pireno (Menzie y cols. 1992). Aunque no existen datos en humanos para cada uno de los PAHs, la IARC ha reevaluado los efectos carcinogénicos de estos compuestos (IARC 2002).

De acuerdo a la última lista de agentes evaluados por la IARC, el benzo(a)pireno se encuentra clasificado como grupo 1, esto es: carcinogénico para el hombre. Esta categoría se aplica cuando existen pruebas suficientes de

carcinogenicidad en humanos o excepcionalmente, como es en este caso, si las pruebas en humanos no son suficientes pero si lo son en animales de experimentación y existen pruebas contundentes en humanos expuestos de que el agente actúa mediante mecanismos relevantes para la carcinogenicidad. Dentro del grupo 2A (probablemente carcinogénico para el hombre) se encuentra el dibenzo(*a,h*)antraceno. Esta categoría se usa cuando existen pruebas limitadas de la carcinogenicidad en humanos y pruebas suficientes en experimentación animal. Por último benzo(*a*)antraceno, criseno, benzo(*b*)fluoranteno, benzo(*k*)fluoranteno, indeno(1,2,3-*c,d*)pireno y el naftaleno se encuentran clasificados como dentro del grupo 2B, (posiblemente carcinogénicos en humanos). Esta categoría incluye compuestos para los que existen pruebas limitadas de carcinogenicidad en humanos y pruebas insuficientes de carcinogenicidad en experimentación animal. Existen otras agencias de clasificación de sustancias según sus efectos carcinogénicos, sin embargo, en esta tesis Doctoral, se hace referencia a lo reportado por la IARC (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de distintos PAHs respecto a su carcinogenicidad

PAH	Carcinogenicidad IARC (Grupo)
Naftaleno	2B
Acenafteno	3
Acenaftileno	-
Fluoreno	3
Fenantreno	3
Antraceno	3
Fluoranteno	3
Pireno	3
Benzo(a)antraceno	2B
Criseno	2B
Benzo(a)pireno	3
Benzo(b)fluoranteno	2B
Benzo(k)fluoranteno	2B
Benzo(a)pireno	1
Benzo(g,h,i)perileno	3
Dibenzo(a,h)antraceno	2A
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	2B

IARC: *International Agency for Research on Cancer.*

5.9. Exposición a contaminantes de origen industrial a través del ambiente laboral y/o tabaco y/o dieta: bifenilos policlorados (PCBs)

Debido a la mayor incidencia de cáncer vesical en población urbana y fumadora, se decidió incluir en este trabajo la cuantificación de los niveles de contaminantes de origen industrial potencialmente carcinogénicos, como son los bifenilos policlorados, ya que es precisamente la población fumadora, de hábitat urbano y de mayor edad la que presenta mayores niveles de estos contaminantes tóxicos persistentes (CTPS) en la población canaria (Henriquez-Hernandez y cols. 2011a)

Los PCBs se incluyen en el gran grupo de contaminantes englobados bajo el nombre genérico de “dioxinas y compuestos análogos”. Este grupo engloba a un grupo de sustancias químicas complejas que se caracterizan por tener varios aspectos en común, entre ellos, contener cloro en sus moléculas y una alta liposolubilidad, lo que las convierte en sustancias estructural, ambiental y biológicamente persistentes, además de acumularse y biomagnificarse a lo largo de la cadena trófica (Van den Berg y cols. 1998; Van den Berg y cols. 2006). Además, las dioxinas y análogos son sustancias ampliamente conocidas por su potente capacidad carcinogénica, estando incluidas en el Grupo I de sustancias de la IARC.

Los PCBs son una serie de compuestos organoclorados, que constituyen una serie de 209 congéneres, los cuales se forman mediante la cloración de diferentes posiciones del bifenilo, 10 en total. Cada posición puede ser sustituida por un átomo de cloro. Si las posiciones 2, 2', 6 y 6' no tienen ningún cloro los bifenilos se mantienen coplanares, hablando por tanto de PCBs coplanares o no-orto. Si tenemos una posición sustituida en cada lado, son PCBs mono-orto sustituidos, y el resto son los PCBs no coplanares. Su fórmula empírica es $C_{12}H_{10-n}Cl_n$, donde n puede variar entre 1 y 10, siendo mayoritarios los congéneres con 2 a 7 cloros (Figura 10).

Las propiedades fisicoquímicas de estos compuestos también dependen del grado de cloración y de si son no-orto, mono-orto o no coplanares. El periodo de semivida puede variar desde 10 días a un año y medio; por lo general estos compuestos son termoestables, no se degradan con la luz y son difícilmente biodegradables. Son ligeramente solubles en agua y muy liposolubles, por lo que se disuelven, en su mayor parte, en disolventes orgánicos (Headrick y cols. 1999; Huwe 2002; Schechter y cols. 2006).

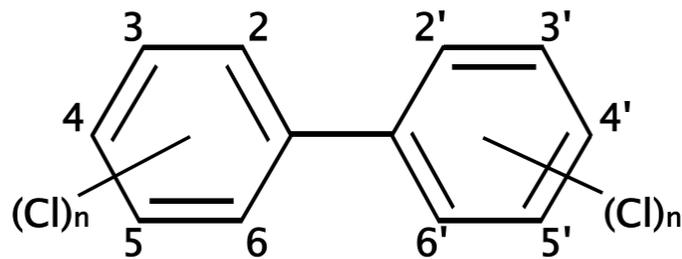


Figura 10. Esquema general de la estructura química de los bifenilos policlorados (PCBs).

A diferencia de las dioxinas, que aparecen como subproductos indeseables, los PCBs fueron intencionadamente fabricados. Fueron sintetizados por primera vez en 1881 por Schmidt y Schultz. Sin embargo, su producción comercial para una gran variedad de aplicaciones, comenzó mayoritariamente por la compañía Monsanto en los Estados Unidos en 1929 y se extendió hasta 1977 (Headrick y cols. 1999). Debido a sus características físico-químicas fueron utilizados para una gran variedad de usos; en sistemas cerrados tales como transformadores eléctricos, condensadores y sistemas de traspaso térmico (en todos ellos como retardantes de llama para evitar el incendio de dichos aparatos), así como también, en sistemas hidráulicos. Fueron utilizados en formulaciones de pinturas, polímeros, pegamentos, lubricantes, plastificantes, formulaciones de plaguicidas y como agentes para la suspensión de pigmentos en el papel de copia sin carbón (Safe 1990; Headrick y cols. 1999). Entre 1930 y 1977, se fabricaron alrededor de 2 millones de toneladas de PCBs (Kimbrough 1987; Safe 1990; Kimbrough 1995). Su fabricación está prohibida desde 1977 en Estados Unidos y desde entonces se fueron prohibiendo en todos los países en donde se fabricaba, siendo Alemania el último país en dejar de fabricarlos, en 1983 (Schecter y cols. 2006). Sin embargo, se estima que de los dos millones de toneladas que se fabricaron, un 31%, es decir 370.000 toneladas, todavía están presentes en el medioambiente global, donde aún no han sufrido degradación. Además, se estima que unas 780.000 toneladas más siguen funcionando hoy día en equipos eléctricos antiguos.

Las dioxinas (*polychlorodibenzodioxins*; PCDDs) son un grupo amplio y estructuralmente relacionado de hidrocarburos aromáticos clorados (Institute of Medicine (U.S.). Committee on the Implications of Dioxin in the Food Supply. y cols.

2003). Teóricamente existen 210 congéneres posibles dentro de este grupo. Existen 75 PCDDs, formadas por dos anillos de benceno unidos a su vez por dos átomos de oxígeno y en su molécula pueden contener de cuatro a ocho átomos de cloro. Se trata de microcontaminantes de origen antropogénico ampliamente distribuidos en el medio ambiente. No tienen uso alguno, pero se forman espontáneamente en multitud de procesos industriales, como la manufactura de ciertos productos químicos, procesos industriales como la fabricación de PVC, la incineración de residuos sólidos urbanos o el blanqueo de la pulpa de madera en la fabricación de papel (Safe 1990). Una de las fuentes industriales importantes de dioxinas son o han sido la fabricación industrial de PCBs y otros compuestos químicos (Huwe 2002). Se han identificado otras muchas fuentes de emisión de dioxinas: sistemas de calefacción caseros que utilizan madera y carbón, motores diesel, incendios de bosques, hierbas y desechos agrícolas. La Agencia de Protección Medioambiental Norteamericana (*Environmental Protection Agency*, EPA), ha estimado que las emisiones anuales de dioxinas disminuyeron en casi un 50% entre 1987 y 1995 debido, sobre todo, a las mejoras en el funcionamiento de incineradores o a la retirada de aquellos que no podían cumplir con los estándares de emisión, entre otras regulaciones (Schechter y cols. 2006). Las dioxinas son sustancias químicamente muy estables y resistentes a la degradación (tanto química como bacteriana) y, por lo tanto, persistentes en el medioambiente.

El prototipo de dioxina está representado por el congénere más tóxico de todos, la 2,3,7,8 tetraclorodibenzodioxina (TCDD) (Figura 11).

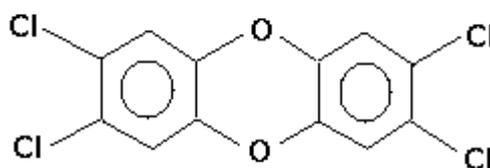


Figura 11. Estructura química de la 2,3,7,8 tetraclorodibenzodioxina (TCDD).

El mecanismo de acción mejor conocido y estudiado de las dioxinas y compuestos análogos (PCBs) es el que está mediado principalmente por su capacidad de unirse al receptor de aril hidrocarburos (AhR), del que son agonistas, induciendo la síntesis de

proteínas. El AhR es un factor de transcripción activado por unión de ligando que está implicado en la regulación de varios de genes, incluyendo muchos que codifican para enzimas que desempeñan un papel importante en el metabolismo de las sustancias tóxicas, así como en genes implicados en la regulación del crecimiento y la diferenciación celular (Denison y cols. 2002; Hahn 2002; Denison y cols. 2003; Mandal 2005). La toxicidad de congéneres individuales se relaciona altamente con la afinidad con la que estos compuestos se unen al AhR, siendo más tóxicos los congéneres que se unen con mayor afinidad al receptor (Okey y cols. 1994).

En ausencia de ligando, el AhR está como complejo soluble multiproteico en el citoplasma celular. Cuando una dioxina o compuesto análogo (PCB) atraviesa la membrana plasmática, se une al AhR, y el complejo ligando-AhR experimenta un cambio conformacional, se trasloca al núcleo y activa la transcripción de una serie de genes. Entre los mejor conocidos están los que codifican para las enzimas de la subfamilia CYP1A1 del citocromo P450 (Denison y cols. 2002; Denison y cols. 2003). Se piensa, que la modulación continua e inadecuada de la expresión de estos genes es la responsable de una serie de cambios bioquímicos, celulares y de los tejidos que dan lugar a parte de los efectos tóxicos de estos compuestos (Mandal 2005).

La toxicidad de los diferentes congéneres de PCBs difiere considerablemente entre sí. Como ya se ha dicho, de todas las dioxinas, es la tetraclorodibenzodioxina (TCDD) la más tóxica (presenta átomos de cloro en las 4 posiciones) (Ahlborg 1993). Por su parte, los PCBs coplanares y los mono-orto sustituidos (12 congéneres) son los que tienen mayor importancia medioambiental y toxicológica debido a que su toxicidad puede ser asimilada a la de las dioxinas, posiblemente debido a la coplanaridad de la molécula (Headrick y cols. 1999; Huwe 2002; Schecter y cols. 2006), y son los que denominamos “compuestos análogos a las dioxinas” (*dioxin-like PCBs*; DL-PCBs) ya que su estructura y conformación coplanar les permite unirse al AhR.

Se considera a las dioxinas y DL-PCBs entre las sustancias orgánicas más tóxicas que existen. La exposición crónica a estas sustancias está relacionada con varios tipos de cáncer. La TCDD ha sido catalogado por la Agencia Internacional para la

Investigación del Cáncer (IARC) dentro del grupo 1: “carcinógenos para el ser humano”. No obstante, según la misma IARC, la TCDD no es un carcinógeno directo, es decir no afecta directamente al material genético, y se considera que existe un nivel de exposición por debajo del cual el riesgo de que produzca cáncer es despreciable.

Si bien, en general, las dioxinas son considerablemente más tóxicas que los DL-PCBs, las cantidades de estos últimos que se liberan y han liberado al medioambiente son varias veces mayores y, por lo tanto, se encuentran habitualmente a concentraciones muy superiores que las dioxinas en los alimentos y en el medio ambiente (Safe 2005). Por ello, y dada la elevada cantidad de muestra de suero necesaria para proceder a la cuantificación de dioxinas, en la presente Tesis Doctoral se procedió a realizar únicamente la cuantificación de los niveles de contaminación por PCBs, incluyendo los 12 DL-PCBs.

5.10. Exposición a contaminantes de origen agrícola a través del ambiente laboral y/o dieta: plaguicidas organoclorados (OCs)

Dado que la población de agricultor se ha relacionado con un mayor riesgo de cáncer vesical se decidió incluir en este trabajo la cuantificación de los niveles de plaguicidas en los sujetos incluidos en el estudio. Debido a la elevada edad de los individuos estudiados (lo que hace posible que se hayan visto expuestos a plaguicidas ya prohibidos pero muy empleados en el pasado) se decidió evaluar el nivel de exposición a plaguicidas organoclorados ya que son potencialmente carcinogénicos y su concentración se incrementa cuando aumenta la edad (Zumbado y cols. 2005). Tal y como ocurría con los PAHs y los PCBs, los OCs son también considerados contaminantes tóxicos persistentes (CTPs).

Bajo el nombre de OCs, se agrupa un número considerable de compuestos sintéticos cuya estructura química, en general, corresponde a la de los hidrocarburos clorados, aunque, además de cloro, algunos de ellos poseen oxígeno o azufre o ambos elementos en su estructura. Los compuestos organoclorados fueron los primeros insecticidas orgánicos utilizados a gran escala. Entre sus propiedades

destacan su reducida volatilidad, alta estabilidad química y solubilidad en lípidos, lenta biotransformación y degradación en el medio ambiente, así como una notable resistencia al ataque de los microorganismos (Matsumoto y cols. 2009). Estas propiedades, que les hacían enormemente atractivos, son también las que en última instancia han provocado su prohibición en numerosos países, pues constituyen el fundamento de los problemas que plantean al medio ambiente: persistencia, bioacumulación y biomagnificación en seres vivos (animales y humanos), transporte de largo alcance y toxicidad; características propias y comunes a todos los contaminantes tóxicos persistentes (CTPs) y que han llevado a la prohibición de la mayoría de estos plaguicidas en los países desarrollados y a la regulación de su uso y fabricación por Agencias Internacionales, como la Agencia para la Protección del Medio Ambiente de la Organización de Naciones Unidas (*United Nations Environmental Program*; UNEP).

El más conocido de los OCs es el diclorodifenil tricloroetano (DDT) cuya estructura se muestra en la figura 12.

Hay que destacar, que las restricciones impuestas en el uso de los OCs se han traducido en un marcado descenso en la concentración media de estos plaguicidas en tejidos humanos, como pone de manifiesto el caso del DDT. En la década de 1960, la concentración media en tejido adiposo en los habitantes de

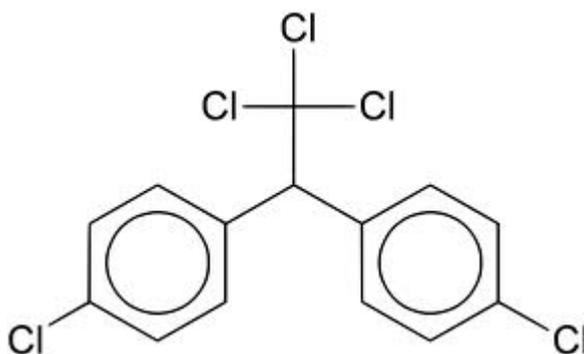


Figura 12. Estructura química del Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT).

Estados Unidos era de 5 ppm, mientras que en 1990 se encontraba ya a niveles unas 100 veces inferiores. Sin embargo, estudios recientes realizados en nuestro país demuestran que, 35 años después de su prohibición, aún es posible medir su principal metabolito, el DDE, en la sangre de la práctica totalidad de los individuos adultos sanos, y el DDT en cerca del 30% de la población (Zumbado y cols. 2005; Luzardo y cols. 2006; Jakszyn y cols. 2009), e incluso en el líquido amniótico de mujeres embarazadas de nuestro país se detectan estos compuestos (Luzardo y cols. 2009). Esto es debido a su alta persistencia en el medioambiente y a su resistencia a la degradación, máxime cuando, aún estando prohibido en muchos países desarrollados, ha sido reintroducido tras un periodo de prohibición, en países en vías de desarrollo, donde desempeñan un importante papel como agentes de control de organismos vectores (malaria en algunos países de África y Sudamérica) y aún como insecticida de uso agrícola. Todo ello, unido al uso masivo que se le dio a este tipo de productos cuando estaban permitidos hace que sea esperable que la detección de estos compuestos en la población se mantenga a lo largo de las próximas décadas.

Al igual que otros CTPs, la tendencia a la biomagnificación y persistencia ambiental de los OCs hace que estén sujetos a amplios ciclos de transporte en toda la biosfera. De esta forma, se han encontrado niveles relativamente altos de un cóctel de OCs en el tejido adiposo de humanos y animales del ártico (Hoekstra y cols. 2005; Leonards y cols. 2008). Rachel Carson, basándose en un incidente real con DDT, publicó en 1962 el libro *"Primavera Silenciosa"*, best-seller que fundó las bases del ecologismo moderno (Carson y cols. 1962; Jaga y cols. 1999). Por primera vez se habló del peligro de usar DDT y otros productos químicos usados como plaguicidas. Lo más alarmante no era únicamente su toxicidad, sino también su capacidad para persistir en los organismos por medio de la acumulación en los tejidos grasos. Con la publicación de estos trabajos se inició un amplio debate que condujo finalmente a la prohibición del uso del DDT y muchos otros OCs en un gran número de países, así como su inclusión en todas las listas de regulación de CTPs que se han ido promulgando a nivel internacional.

Atendiendo a su estructura, modo de síntesis y otras propiedades comunes a un grupo de ellos, se han propuesto varias clasificaciones para los OCs. En la presente Tesis Doctoral se hace uso de una clasificación de los OCs más utilizados según su estructura química (O'Neil 2006):

Compuestos poliaromáticos clorados (DDT, Dicofol, Metoxicloro, Clorobencilato): Son prácticamente insolubles en agua a 25°C. Sin embargo, son moderadamente solubles en numerosos disolventes orgánicos, tales como hidrocarburos aromáticos, alifáticos, cetonas y alcoholes. Aunque se consideran no volátiles, pueden pasar al aire a partir del suelo de manera continua, sobre todo en presencia de agua. En presencia de luz ultravioleta, el DDT pierde HCl y se transforma en diclorodifeniletileno (DDE), compuesto que carece de acción insecticida, pero conserva el resto de propiedades.

Cicloalcanos clorados (Hexaclorociclohexano): El hexaclorociclohexano técnico (HCH) es una mezcla de 8 isómeros, entre los cuales el isómero conocido como *gamma* HCH o lindano, está presente en una proporción del 10-18%. Es precisamente este isómero el que le confiere las propiedades insecticidas a la mezcla, pues los demás isómeros del HCH apenas poseen efecto tóxico agudo sobre los insectos y otros organismos. Debe mencionarse, sin embargo, que hay numerosos estudios que identifican al isómero *beta* HCH como promotor del cáncer de mama (Zou y cols. 2003; Wong y cols. 2007). El lindano (*gamma* HCH) es moderadamente soluble en agua (10 mg/l) y más soluble en acetona, cloroformo y etanol. Es estable a la acción de la luz solar, del oxígeno del aire, del calor y de los ácidos concentrados. Sin embargo, en medio alcalino se descompone y libera con facilidad ácido clorhídrico.

Compuestos ciclodiénicos clorados (Aldrina, Dieldrina, Endrina, Heptacloro, Endosulfán, Clordano, Mirex, Clordecona): El clordano técnico es una mezcla de diferentes hidrocarburos clorados, estrechamente relacionados por sus estructuras. En teoría contiene 70% de *cis*-clordano, 25% de *trans*-clordano, 1% de heptacloro y

el 4% restante de una mezcla de otros compuestos. Su volatilidad es intermedia entre la del lindano y la del DDT. Es prácticamente insoluble en agua y soluble en éteres, cetonas, hidrocarburos aromáticos y alifáticos. Es relativamente estable ante los ácidos, mientras que en medio alcalino libera ácido clorhídrico con facilidad. De manera similar, el heptacloro y el endosulfán tienen limitada solubilidad en agua, se disuelven preferentemente en cloroformo, tetracloruro de carbono, xileno y otros disolventes orgánicos y son moderadamente solubles en etanol. Son estables ante la humedad, el aire y el calor, y no se degradan por la acción de la luz ultravioleta. El heptacloro es moderadamente estable en presencia de agua, ácidos, bases y agentes oxidantes. En el ambiente, se transforma para dar su epóxido, el cual es todavía más estable. El endosulfán es sensible a los ácidos y a las bases y, en presencia de agua, se hidroliza, dando lugar a endosulfandirol, el cual carece de acción insecticida. La aldrina es muy poco soluble en agua. Este compuesto es estable ante los ácidos débiles, las bases y el calor y es sensible a la acción de la luz ultravioleta. En presencia de ácidos fuertes y tras su biotransformación en los seres vivos, se transforma en dieldrina, la cual es mucho más estable. La dieldrina y endrina poseen características físicoquímicas similares a las de la aldrina. El mirex forma cristales incoloros, y es prácticamente insoluble en agua, pero moderadamente soluble en benceno, tetracloruro de carbono, xileno y otros disolventes orgánicos. En condiciones ambientales, es extremadamente estable y persistente. La clordecona es muy similar al mirex.

Terpenos clorados (Canfeclor): El canfeclor, más conocido por su primer nombre comercial toxafeno, tiene un contenido de cloro del orden del 67-69%. El número de productos químicos individuales que forman parte del toxafeno así como sus estructuras es desconocido. Al igual del resto de los OCs, es poco soluble en agua. Se descompone por la acción de la luz solar, liberando ácido clorhídrico.

Bencenos policlorados (pentaclorobenceno, hexaclorobenceno): El hexaclorobenceno es un sólido blanco cristalino que no se encuentra de forma natural en el medio ambiente. Es prácticamente insoluble en agua y muy soluble en disolventes orgánicos, como hexano, benceno o cloruro de metileno. En condiciones

ambientales, es extremadamente estable y persistente. Además de haber sido utilizado hasta el año 1965 como plaguicida, se forma espontáneamente a partir de otros compuestos orgánicos policlorados, como subproducto industrial y en la combustión de residuos sólidos urbanos. El pentaclorobenceno tiene unas características muy similares a las del hexaclorobenceno.

Todos los OCs comparten varias características físicoquímicas, principalmente su liposolubilidad, la estabilidad química y sobre todo su elevada resistencia a la degradación. En la Tabla 3 se muestra el periodo durante el que permanecen inalterados en el suelo.

Desde principios de los años 70 del siglo pasado, un país tras otro han ido restringiendo o prohibiendo el uso de la mayor parte de los OCs, a menudo con el DDT como única excepción para el control de vectores de enfermedades infecciosas, principalmente la malaria. Los datos sobre el uso real actual de determi-

Tabla 3. Vida media en el suelo de los POCs incluidos en el convenio de Estocolmo

Plaguicida	Vida media aproximada
Aldrina	5 años en suelos templados
Camfeclor (Toxafeno)	3 meses - 12 años
Clordano	2 - 4 años
DDT	10 - 15 años
Dieldrina	5 años en suelos templados
Endrina	Hasta 12 años
HCB	3 - 6 años
Heptacloro	Hasta 2 años
Mirex	Hasta 10 años
HCH	Días - 3 años

nados OCs son muy difíciles de obtener, y en ocasiones los que hay, ofrecen poca fiabilidad (Tabla 4).

A fecha de 2010, la producción y utilización de la mayoría de los OCs, con la ya mencionada excepción del DDT, había cesado prácticamente por completo en todos los países desarrollados, si bien algunos de ellos, como los que se utilizan para el control de las termitas (aldrina, heptacloro, mirex) han seguido siendo utilizados en países como Australia o Estados Unidos hasta finales de los años 90. Algunos otros, como el HCB, si bien ya ha dejado de fabricarse y utilizarse en prácticamente todo el mundo, sigue siendo liberado al medioambiente, ya que es un subproducto frecuente de numerosos procesos químicos industriales y también, en menor medida, de la incineración de residuos sólidos urbanos.

En los países en vías de desarrollo, si bien ha habido una reducción importante en su uso, debida principalmente a las restricciones al comercio de productos agrícolas con residuos de plaguicidas, algunos de los cuales son ampliamente utilizados. Una buena parte de estos son el ya mencionado DDT, como plaguicida residual para el control de vectores de enfermedades, y el clordano y heptacloro para proteger la madera del ataque de las termitas.

Con respecto al lindano (gamma hexaclorociclohexano), en noviembre de 2006, 52 países habían prohibido su uso, y 33 más lo habían restringido, pero 17 países más, entre ellos Estados Unidos o Canadá, continuaban usándolo en la agricultura y en aplicaciones farmacéuticas (Commission-for-Environmental-Cooperation 2006). Tras la inclusión por la UNEP del lindano en el “Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Tóxicos Persistentes” el 8 de mayo de 2009 (United-Nations-Environmental-Program 2001), el uso agrícola ha cesado por completo en todos los países que han ratificado el Convenio, pero las aplicaciones farmacéuticas - para el control de piojos y la sarna - constituyen una excepción y puede seguirse utilizando durante 5 años más. Estados Unidos, país que aún no ha ratificado el Convenio de Estocolmo, también ha prohibido el uso agrícola del lindano en su territorio, y reserva los usos farmacéuticos como tratamiento de segunda elección para piojos/sarna (Environmental-Protection-Agency 2006).

Tabla 4. Últimos usos registrados de los OCs incluidos en el Convenio de Estocolmo

Plaguicida	Últimos usos conocidos
Aldrina	Contra termitas y otras plagas rastreras, almacenamiento de cereales, control de vectores.
Camfeclor (Toxafeno)	Insecticida en cultivos de algodón.
Clordano	Contra termitas y otras plagas rastreras.
DDT	Control de vectores transmisores de enfermedades infecciosas para el hombre y animales (<i>anopheles spp.</i> , mosca tse-tse, pulgas).
Dieldrina	Control de la langosta, termitas, y vectores de enfermedades humanas.
Endrín	Antiguamente utilizado para el control de roedores e insectos. No se conocen usos actuales ni recientes.
HCB	Antiguamente utilizada para el tratamiento de semillas contra enfermedades fúngicas, así como para fines industriales. No se conocen usos agrícolas o industriales actuales o recientes.
Heptacloro	Contra termitas y otras plagas rastreras.
Mirex	Contra hormigas cortadoras de hojas, termitas y como retardante de llama y otros fines industriales. Uso agrícola general. Aplicaciones farmacéuticas.
HCH	Aplicaciones veterinarias. Insecticida para instalaciones ganaderas.
Endosulfan	Uso agrícola común.

El clordano (también denominado kepona), aunque dejó de utilizarse en la mayor parte de los países hace décadas prácticamente al mismo tiempo que el DDT, no fue incluido en el Convenio de Estocolmo hasta 2009 junto con el lindano. Sólo en algunos países su uso continuó hasta mediados de los 90 (Cabidoche y cols. 2009).

Finalmente, mencionar que el endosulfán no está aún regulado por el Convenio de Estocolmo. No obstante, ha sido incluido entre los analitos de interés para este trabajo de Tesis Doctoral ya que sin duda es uno de los firmes candidatos a una próxima inclusión, y cuyos efectos sobre la salud en general y el cáncer de vejiga en particular, no son del todo conocidos. Hasta la fecha su uso ha sido prohibido en más de 62 países, incluidos los de la Unión Europea y por consiguiente España, donde dejó de utilizarse en enero de 2008 (Commission-for-Environmental-Cooperation 2006). Hasta entonces, era ampliamente utilizado en nuestro país, por ejemplo en el cultivo de tomates en Almería, Murcia o Canarias. Este plaguicida fabricado por Bayer sigue siendo ampliamente utilizado en muchos países del mundo para el control de plagas agrícolas, preservación de madera, jardinería o control de la mosca tse-tse (Srivastava y cols. 2009).

Cuando hablamos del mecanismo de acción tóxica de los OCs hay que distinguir claramente entre el mecanismo que produce la toxicidad aguda, responsable de la amplia utilización que durante décadas han tenido estos compuestos en el control de plagas, de los mecanismos de toxicidad a largo plazo, comunes además a gran parte del resto de CTPs, que se producen tras la exposición inadvertida a bajas concentraciones de estos compuestos durante toda la vida de un individuo. Debido a que los mecanismos de toxicidad aguda, responsables de su efecto insecticida, no tienen relación alguna con su potencial efecto carcinogénico sólo se exponen a continuación de forma breve.

Existen varios mecanismos de toxicidad aguda de los OCs. Un mecanismo común a todos ellos es la interferencia con el arco reflejo que se establece entre los nervios sensoriales, el sistema nervioso central y los nervios motores, que activan la respuesta muscular a los estímulos externos (Mariussen y cols. 2006). En insectos o mamíferos intoxicados por acción del DDT o compuestos similares, se observan temblores y convulsiones persistentes. El estudio de la conducta eléctrica de las fibras nerviosas muestra que los POCs inducen un alargamiento considerable de la fase descendente del potencial de acción, manteniendo así a la membrana de la neurona en un estado parcialmente despolarizado, muy susceptible a una nueva

despolarización total ante los menores estímulos. Esta modificación del comportamiento eléctrico de las células nerviosas se produce por varios mecanismos (Narahashi 2002; Mariussen y cols. 2006). El DDT, además, inhibe la calmodulina, necesaria para el transporte de iones calcio, a su vez imprescindible en la secreción de neurotransmisores en la sinapsis. También inhibe la adenosina trifosfatasa (ATPasa) de las neuronas, en particular las bombas de sodio, potasio y calcio, esenciales en la repolarización (Janik y cols. 1992). Los clorobencenos, clorociclohexanos y clorociclodienos también son inhibidores potentes de las bombas de Na^+ , K^+ y Ca^{2+} en las membranas de las neuronas, provocando potenciales de acción disminuidos (Narahashi 2002; Mariussen y cols. 2006). Pero estos plaguicidas actúan también por estimulación del sistema nervioso central, ya que son antagonistas del ácido γ -aminobutírico (GABA), con lo que bloquean el paso de iones cloruro inducido por este neurotransmisor (Coats 1990; Sunol y cols. 1998). El mecanismo inhibitorio de GABA explica los efectos colinérgicos de la dieldrina y del lindano en varias especies. A diferencia del DDT, para el que existen pocos casos de intoxicación con resultado de muerte, los clorociclodienos han sido causantes de numerosas muertes, además de ser muy persistentes y tóxicos para el medio ambiente. Se absorben rápida y eficazmente por vía cutánea, lo que contribuye a la mayor toxicidad que se ha observado en exposiciones ocupacionales.

Además de los efectos sobre el sistema nervioso, la exposición a lindano y al llamado lindano técnico (una mezcla de todos los isómeros del HCH) produce efectos tóxicos sobre el hígado y los túbulos renales, aunque se desconoce el mecanismo de toxicidad sobre estos órganos (Srinivasan y cols. 1984; Reddy y cols. 1994).

La intoxicación aguda en los mamíferos y el hombre se manifiesta con un cuadro sintomatológico derivado de su interferencia con los mecanismos de neurotransmisión: parestesia en la lengua, labios y cara, hipersensibilidad a estímulos externos, como la luz, sonido o tacto, irritabilidad, mareos, vértigo,

temblores y convulsiones (Milne 1995). Actualmente, debido a las restricciones del uso de estos productos, apenas se describen casos de este tipo de intoxicación.

Sin embargo, los efectos crónicos de la exposición a dosis bajas pero continuadas a estos compuestos son el principal motivo de preocupación actualmente, y responden a mecanismos extremadamente complejos de disrupción endocrina que están sometidos a múltiples variables dependientes del individuo y de la presencia simultánea de otras sustancias químicas.

Gran parte de los efectos adversos que tiene sobre la salud humana la exposición crónica a dosis bajas de estas sustancias se relacionan con el fenómeno denominado disrupción endocrina. Así, a los CTPs del tipo de los OCs y PCBs capaces de producir disrupción endocrina se les denomina “disruptores endocrinos”, esto es, *“agente exógeno que interfiere con la síntesis, secreción, transporte, metabolismo, unión o eliminación de las hormonas que de forma natural están presentes en el cuerpo y que son las responsables de la homeostasis, la reproducción y el desarrollo”* (Diamanti-Kandarakis y cols. 2009).

La capacidad de los OCs para interferir en la función endocrina fue establecida hace más de 30 años. El hecho inicial fue la constatación de que la población de pájaros piscívoros había declinado en los Estados Unidos debido a problemas reproductivos graves. Tales observaciones permitieron la identificación del DDE, principal metabolito del DDT, como agente causante de las alteraciones reproductivas observadas (Hickey y cols. 1968). El problema fue parcialmente resuelto con la retirada del pesticida en 1972, aunque sus residuos continúan estando presentes en el medioambiente, afectando por tanto a las poblaciones expuestas incluida la especie humana.

Otras observaciones medioambientales relacionadas con la exposición masiva de poblaciones animales, han ayudado a entender el problema de la disrupción hormonal. Los casos recogidos en la literatura científica son múltiples. Sirva de ejemplo lo ocurrido con la población de caimanes del lago Apopka en

Florida, que se expusieron al pesticida dicofol tras un vertido accidental en 1980. Diez años más tarde, la población de caimanes había descendido significativamente, habiendo aumentando la mortalidad en los huevos y la mitad de las crías nacidas languidecían y morían antes de los diez días; se encontraron, además, hembras adolescentes que tenían anomalías severas en los ovarios y presentaban niveles de estrógenos en sangre dos veces más altos de lo normal. Por otro lado, los caimanes machos jóvenes estaban fuertemente feminizados, presentaban penes anormalmente pequeños y tenían niveles de estrógenos más altos en su sangre que los normales. Las investigaciones llevadas a cabo sirvieron para concluir que el plaguicida organoclorado dicofol que fue vertido al lago había alterado el sistema endocrino de los embriones, limitando la capacidad de los caimanes para reproducirse y dando lugar a las malformaciones descritas (Guillette y cols. 1995a; Guillette y cols. 1995b).

Actualmente, el conocimiento acerca del mecanismo de acción de los OCs como disruptores endocrinos es bastante profundo, pero quedan aún grandes lagunas en la comprensión global de sus efectos sobre la salud del hombre y el resto de los seres vivos. En un principio, se pensaba que los OCs ejercían sus efectos principalmente a través de su unión con los receptores nucleares para hormonas, incluyendo los receptores de estrógenos (REs), los receptores de andrógenos (RAs), los receptores de progesterona (RPs), los receptores de hormonas tiroideas (RTs) y los receptores de retinoides, entre otros. En términos muy amplios, las dioxinas, PCBs y OCs contienen grupos halogenados en su estructura (con sustituciones por átomos de cloro y bromo) y muchas de estas moléculas contienen un grupo fenólico que se piensa que es el responsable de conferirles similitud con las hormonas esteroideas, siendo así reconocidos como ligandos por los receptores de dichas hormonas, ya sea como agonistas o como antagonistas.

Hoy en día, la base científica de conocimiento sobre el tema ha aumentado y muestra que el espectro de mecanismos de acción es mucho mayor. Así, se sabe que los OCs actúan mediante su unión a los receptores nucleares, pero también a los receptores no nucleares (o de membrana) para hormonas esteroideas,

receptores no esteroideos (por ejemplo, receptores para neurotransmisores, como el receptor de serotonina, el receptor de dopamina o el receptor de norepinefrina), receptores huérfanos (como el receptor de aril hidrocarburos, AhR), rutas enzimáticas implicadas en la biosíntesis de esteroides y/o metabolismo, y numerosos otros mecanismos que convergen en la afectación de los sistemas endocrino o reproductivo. En este sentido se ha de reseñar que recientemente se ha descrito la capacidad de los OCs para alterar la actividad del sistema hormonal dependiente de la hormona del crecimiento (Sistema GH-IGF), lo cual abre nuevas puertas a la acción tóxica de estos compuestos (Boada y cols. 2007; Zumbado y cols. 2010).

Muchos de los efectos que ejercen los OCs son paradójicos. Lo primero que llama la atención de estas sustancias, es que incluso a dosis infinitesimales, pueden producir anomalías endocrinas o reproductivas, particularmente si la exposición tiene lugar en un periodo crítico del desarrollo. En algunos casos, las dosis bajas pueden producir efectos más potentes que las dosis más altas, dando lugar a curvas de dosis-respuesta en forma de “U” o de “U invertida” (Boada y cols. 2007; vom Saal y cols. 2007).

Por otra parte, la literatura también demuestra que los OCs juegan un papel relevante en enfermedades de etiología compleja como la obesidad, la diabetes mellitus, la enfermedad cardiovascular o el cáncer, si bien la dimensión de sus implicaciones es todavía poco conocida. Aunque la evidencia es limitada, los datos apuntan a asignar un papel potencial de los OCs (y también PCBs y dioxinas), ya sea directa o indirectamente, en la patogenia de la adipogénesis y la diabetes (Diamanti-Kandarakis y cols. 2009). A muchos de estos compuestos estamos expuestos durante toda nuestra vida, incluso antes de nacer, como lo demuestra el hecho de que hayan podido ser medidos en el líquido amniótico de mujeres gestantes (Luzardo y cols. 2009). Las consecuencias de la exposición a los CTPs pueden ser muy diferentes dependiendo de la edad a la que se produzca la exposición. Es decir, que la exposición de un adulto a CTPs puede tener consecuencias muy diferentes a la de un feto en desarrollo o un niño, siendo el

desarrollo y la infancia los periodos más críticos a los efectos adversos de estos compuestos. Tanto es así que en la literatura científica se ha acuñado el concepto de “las bases fetales de las enfermedades del adulto”, para describir la forma en que las sustancias presentes en el medio ambiente en el que se desarrolla un organismo (la madre en los mamíferos o el huevo en el resto de los vertebrados) interactúan con los genes del individuo para determinar su propensión a desarrollar una enfermedad o disfunción en el futuro. En términos más amplios, la Endocrine Society ha extendido este concepto a la infancia, (Barker 2003). El concepto de las “bases del desarrollo de las enfermedades del adulto” lleva implícito el hecho de que existe un lapso de tiempo entre el inicio de la exposición y las manifestaciones clínicas de las consecuencias de la misma. En otras palabras, las consecuencias de la exposición a los OCs (o PCBs o dioxinas) pueden no aparecer inmediatamente ni de forma precoz en la vida, sino que pueden manifestarse con el transcurso del tiempo, incluso muchos años después, durante la vida adulta (Barker 2003). Así por ejemplo, la alteración del pico fisiológico de IGF que tiene lugar en la pubertad, debido a la exposición a OCs, va marcar los niveles de IGF en la edad adulta, determinando como consecuencia la aparición de mayor riesgo para la aparición de ciertas patologías (Zumbado y cols. 2010).

Si los individuos y las poblaciones están expuestos a un determinado contaminante, es muy probable que lo estén a otros muchos de forma simultánea, ya que rara vez los ecosistemas están contaminados por un único compuesto. Esto tiene mucha relevancia de cara a los efectos clínicos, ya que, independientemente de los efectos que hayan podido ser demostrados en experimentos *in vitro* o *in vivo*, la presencia de otros contaminantes en las situaciones reales de exposición puede inducir fenómenos de adición de efectos, pero también de sinergismo y de potenciación (Kortenkamp 2007).

La acción tóxica de la exposición crónica a OCs no sólo puede afectar a la persona expuesta, sino también a las generaciones subsiguientes. Los mecanismos no están claros, si bien investigaciones recientes sugieren que los mecanismos pueden ser no genómicos, es decir, que no se transmitirían por una mutación en la

secuencia de ADN, sino a través de modificaciones de factores que regulan la expresión génica, tales como la metilación del ADN o la acetilación de histonas. En este sentido la potencial acción carcinogénica de los OCs podría venir definida por mecanismos de acción epigenética y no de daño directo al ADN. Entre las patologías tumorales malignas que se han relacionado con la exposición crónica a OCs, cabe destacar el cáncer de testículo y próstata, el cáncer colorrectal y el cáncer de mama y ovario, aunque no existen estudios que aborden la potencial relación existente entre OCs o PCBs y cáncer vesical.

5.11. Otros factores de riesgo

Se han hecho numerosos estudios en relación al papel que determinados medicamentos puedan tener en el cáncer de vejiga. Se ha visto que el uso frecuente de determinados analgésicos (fenacetina o paracetamol) aumenta ligeramente el riesgo de padecer cáncer de vejiga (Piper y cols. 1985; Derby y cols. 1996; Fortuny y cols. 2006). Algunos estudios han evidenciado un aumento del riesgo de cáncer de vejiga entre los pacientes tratados con ciclofosfamida (Pedersen-Bjergaard y cols. 1988). Más curiosos son los datos reportados respecto a los barbitúricos. Se ha observado el tratamiento con este tipo de sustancias protege del cáncer de vejiga, posiblemente debido a la interacción que este tipo de sustancias tiene con otras enzimas de metabolización o a las enfermedades asociadas al uso de este tipo de medicamentos (epilépticos) que poseen unos niveles más bajos de otros hábitos nocivos como el tabáquico (Olsen y cols. 1989).

Por otra parte, la inflamación de la vejiga, por infección o por cálculos, podría afectar al desarrollo del cáncer de vejiga. La evidencia parece ser más clara entre el carcinoma de células escamosas (no del epitelio de transición) y la infección por *S. Haematobium-bilharziasis*. También se ha visto una asociación positiva entre el riesgo de cáncer de vejiga y las cistitis e infecciones no específicas del tracto urinario. La inflamación del epitelio podría favorecer la absorción de carcinógenos urinarios. Además, algunas bacterias promueven la formación de compuestos N-nitrosurados (Adami y cols. 2008). La prevalencia de infecciones por el virus del

papiloma humano (HPV) en biopsias de cáncer de vejiga está en torno al 5% (Gillison y cols. 2003), lo que sugiere que este tipo de infecciones no tiene un papel relevante en la etiología de esta enfermedad. Algunos estudios han asociado la infección combinada de HPV y *S. Haematobium* (Yang y cols. 2005), aunque en general las evidencias entre las infecciones y el riesgo de desarrollo de cáncer vesical es escaso.

6. FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS AL CÁNCER DE VEJIGA

Se ha de reseñar que aunque este tipo de patología tumoral sólo esporádicamente es familiar (Kakizoe y cols. 1980; Kausch y cols. 2006), se han reportado casos de agregación familiar compatible con cierto patrón de herencia, caracterizado fundamentalmente por una temprana edad de aparición de la tumoración (Kiemenev y cols. 1996). No obstante, a día de hoy no se han identificado genes de alta penetrancia relacionados con el cáncer vesical. Se supone que el 1% de los tumores de vejiga presentan agregación familiar, y se estima un riesgo relativo para los individuos pertenecientes a este tipo de familias de 1,2 a 4,0 (Pina y cols. 2001). Recientemente se ha reportado un mayor riesgo de sufrir cáncer de vejiga entre casos con retinoblastoma hereditario (Fletcher y cols. 2004).

Lo que sí parece demostrado es el papel de la susceptibilidad genética en la carcinogénesis de esta patología, sobre todo asociada a polimorfismos en genes del metabolismo. Dada la relativa homogeneidad histológica de este tipo de tumores, la conocida acción de los factores medioambientales y la variación inter-individual existente en los procesos de metabolización de agentes carcinógenos y de reparación del daño al ADN causado por este tipo de sustancias, la carcinogénesis vesical es un excelente modelo para evaluar la susceptibilidad genética y las interacciones medioambientales. Aunque muchos estudios han evaluado el papel de determinados polimorfismos genéticos como factores de riesgo para el cáncer de

vejiga, la mayoría son de potencia estadística limitada y reportan únicamente asociaciones moderadas o leves (Deitz y cols. 2004).

Así, por ejemplo, si nos referimos a uno de los factores exógenos más fuertemente relacionados con cáncer vesical, como es el tabaco, se ha de decir que los agentes precarcinógenos presentes en el tabaco son generalmente metabolizados en el organismo, lo que puede resultar en detoxificación (inactivación) o bioactivación. Los metabolitos activos pueden causar daño al ADN, lo que provocaría mutaciones que de originarse en protooncogenes iniciaría a las células en el proceso tumoral. La reparación del daño al ADN y los puntos de control del ciclo celular son los dos primeros mecanismos de defensa de la célula contra el daño generado en el ADN (Figura 13). Clásicamente, se han estudiado los polimorfismos más frecuentes en los genes más relevantes relacionados con este tipo de mecanismos. No obstante, los avances producidos en relación a este campo y a los polimorfismos de un único nucleótido (SNP) hacen hoy posible la realización de estudios globales (*Genome-wide association studies, GEWAS*) de cientos de polimorfismos en cientos de genes al mismo tiempo.

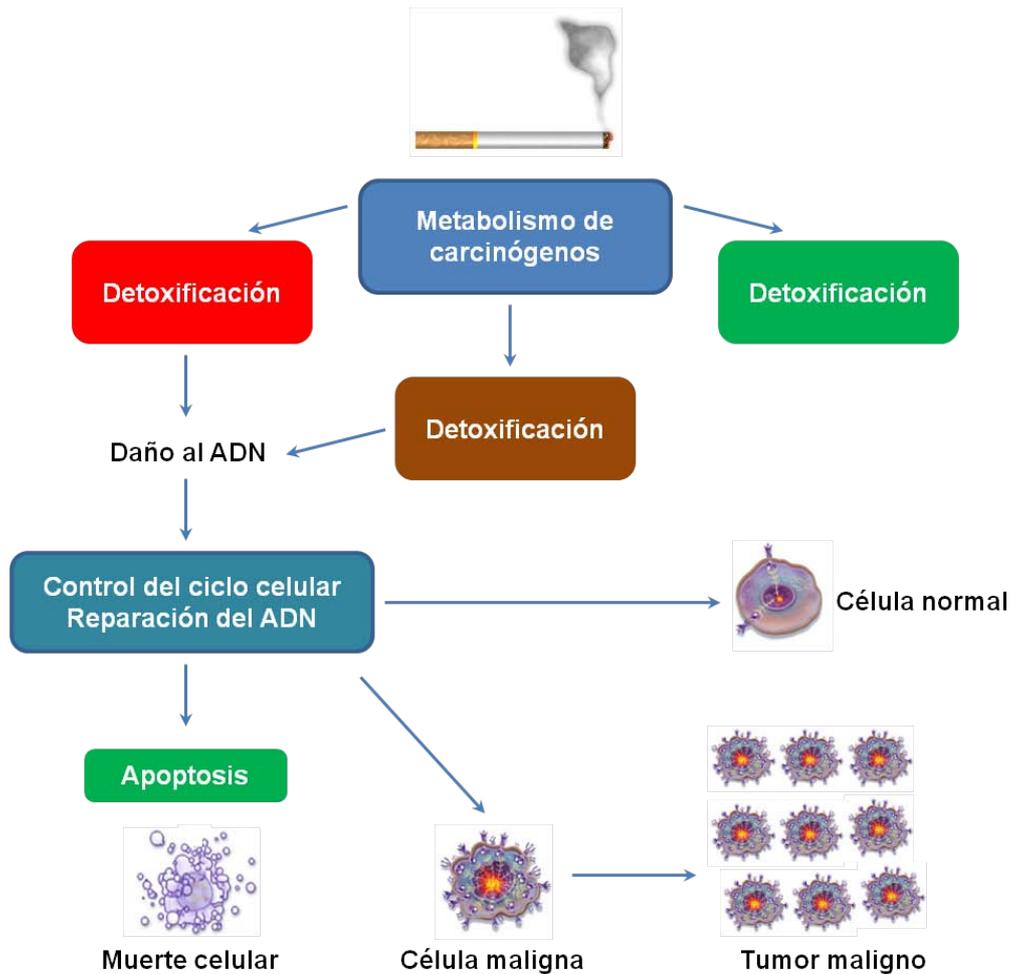


Figura 13. Vías etiológicas evaluadas en estudios de susceptibilidad genética del cáncer de vejiga (Adami y cols. 2008).

Como ya se ha dicho en todo este proceso juegan un papel crucial los genes relacionados con el metabolismo. Por ejemplo, la capacidad para metabolizar compuestos de tipo monoaminas aromáticas N-acetiladas, algunas de ellas presentes en el tabaco, es polimórfica en las poblaciones humanas. La enzima responsable de este proceso es la N-acetil transferasa (NAT). El 50% de la población caucásica es homocigota para el gen que codifica para este enzima (NAT2), lo que provoca un enlentecimiento de la actividad de la enzima (acetiladores lentos). Este porcentaje es del 30% entre la población africana, y del 15% entre los sujetos asiáticos (Vatsis y cols. 1991; Hein 2002). La mayoría de los estudios se hacen en cohortes de pacientes pequeñas (alrededor de los 100 pacientes). Los

estudios de metaanálisis parecen reportar un incremento del riesgo de sufrir cáncer de vejiga entre los acetiladores lentos (Marcus y cols. 2000; Garcia-Closas y cols. 2005). Los pacientes con este polimorfismo en NAT2, que les convierte en acetiladores lentos, tienen un 40% más de probabilidades de sufrir cáncer de vejiga urinaria, y ese riesgo aumenta más aún si los individuos son fumadores (Figura 14). Este efecto del tabaco se explica porque los acetiladores lentos presentan una menor capacidad para metabolizar y detoxificar las monoaminas aromáticas procedentes del tabaco (Hein 2002). Además, los fumadores acetiladores lentos tienen mayores niveles de lesiones moleculares relacionadas con este tipo de productos (Yu y cols. 1994). Estos resultados refuerzan los estudios que indican que estos compuestos deben ser consideradas los principales sospechosos a la hora de justificar el papel carcinogénico del tabaco en el cáncer de vejiga.

Estos estudios demuestran que en este tumor la interacción gen-medioambiente es bastante plausible. Sin embargo, la mayor parte de asociaciones a este respecto han sido reportadas en poblaciones de origen caucásico. Se necesitan más estudios en otro tipo de poblaciones, y el papel del tipo de tabaco, la intensidad de hábito y del sexo del paciente deben ser estudiados con mayor detalle. Por otra parte, la mayoría de los estudios publicados acerca de NAT2 no tienen en cuenta otros factores como la profesión del paciente o la exposición a otros carcinógenos medioambientales. Un estudio publicado en trabajadores expuestos a otro tipo de carcinógenos (bencidina), no mostró incremento del riesgo de padecer cáncer de vejiga en relación a NAT2, lo que demuestra que el tipo de amina aromática puede ser importante a la hora de establecer el riesgo (Carreon y cols. 2006).

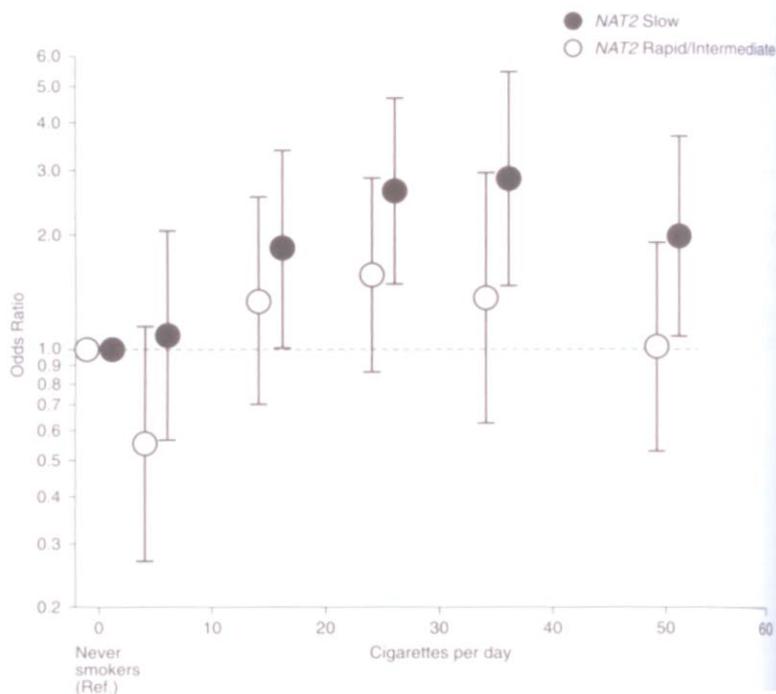


Figura 14. Asociación entre la intensidad del hábito tabáquico (número medio de cigarrillos diarios) y el riesgo de desarrollo de cáncer vesical comparado con los no fumadores y estratificado según el genotipo de NAT2. Las barras indican el intervalo de confianza 95% (Garcia-Closas y cols. 2005).

El gen NAT1 codifica para una enzima relacionada con la activación de aminas policíclicas mediante O-acetilación (Hein 2002). La asociación entre el genotipo NAT1*10, solo o en combinación con NAT2-acetilador lento, y el cáncer de vejiga, es inconsistente (Garcia-Closas y cols. 2005; Gu y cols. 2005).

El gen GSTM1 codifica para la enzima glutatión-S transferasa M1, una enzima relacionada con la metabolización de diversos xenobióticos y agentes carcinógenos, entre los que se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) y diferentes especies reactivas de oxígeno. La presencia de una delección homocigota en el gen conduce a un genotipo asociado a una falta de actividad enzimática (genotipo nulo). Se estima que este genotipo está presente en el 50% de la población caucásica. Al igual que ocurría con NAT2, los meta-análisis realizados parecen indicar que este polimorfismo incrementa el riesgo de cáncer de vejiga (Engel y cols. 2002; Garcia-Closas y cols. 2005). En el estudio de Garcia-Closas y cols, el incremento del riesgo asociado al genotipo GSTM1-nulo era igual para fumadores y

para no fumadores, lo que sugiere que la actividad de esta enzima protege por igual contra sustancias relacionadas con el tabaco y no asociadas a él. La disminución del riesgo entre los individuos con función normal de la enzima parece no estar relacionada con los fenómenos de detoxificación de los PAHs entre los fumadores. Otro posible mecanismo de acción de estas enzimas es la detoxificación de especies reactivas de oxígeno, lo que protegería al ADN del daño provocado por este tipo de sustancias (Hayes y cols. 2000). La asociación entre otros polimorfismos de GST, por ejemplo GSTT1 o GSTP1, y el cáncer de vejiga ha sido explorada en distintos estudios, con resultados contradictorios.

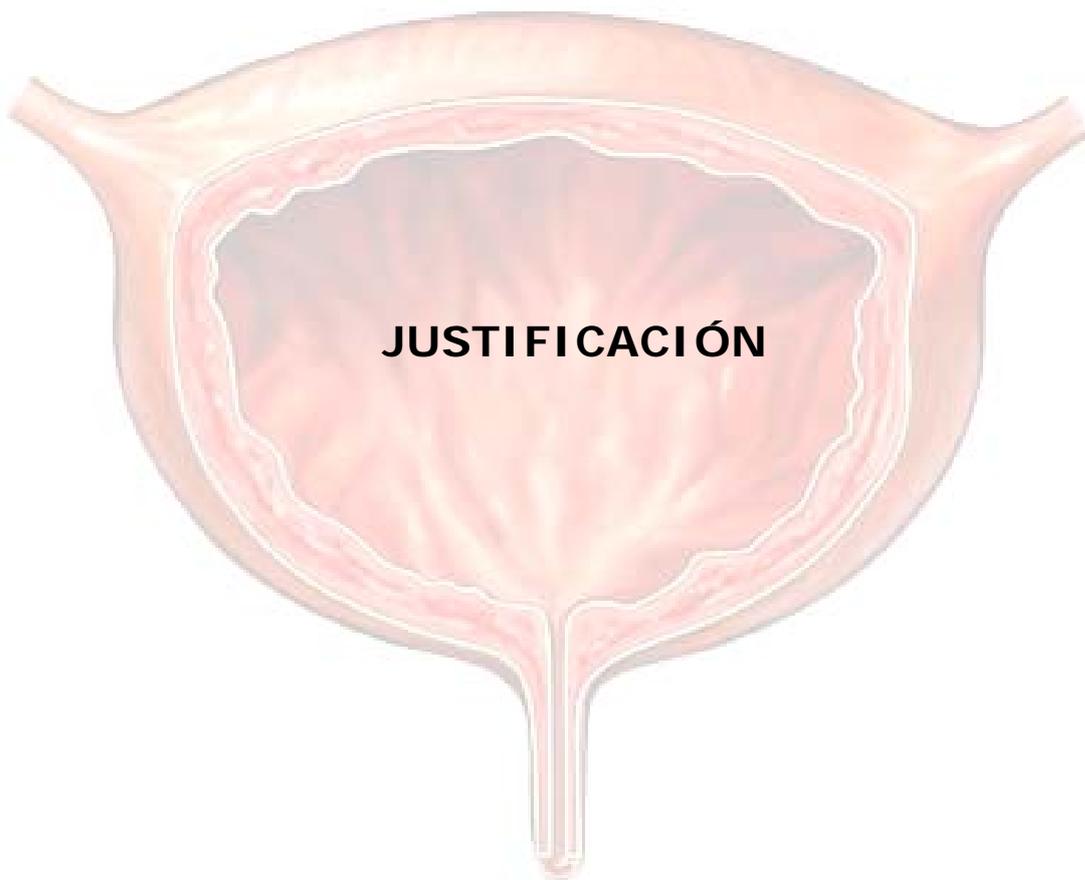
Por otra parte, el citocromo P-450 CYP1A2 está relacionado con procesos de activación de aminas aromáticas mediante N-hidroxilación, y es en la especie humana un gen bastante polimórfico. No obstante, la relevancia funcional de las variables genéticas de CYP1A2 no están bien caracterizadas (Landi y cols. 1999), y no se conoce exactamente el papel que juega este gen en la carcinogénesis vesical. Desde luego, polimorfismos en otros genes del metabolismo de xenobióticos pueden tener más o menos relevancia. Es el caso de los genes CYP1A1, CYP1B1, CYP2C19, CYP2D6 o CYP2E1; sulfotransferasas relacionadas con la activación de aminas aromáticas; e hidrolasas relacionadas con el metabolismo de los epóxidos que se forman durante el metabolismo oxidativo de sustancias como los PAHs.

El papel jugado por genes relacionados con la reparación del ADN también parece ser relevante. Una compleja e intrincada red de procesos repara los daños causados al ADN por sustancias exógenas al organismo. La vía de reparación por escisión de nucleótidos (NER) es la principal a la hora de resolver los aductos formados en el ADN como consecuencia de la exposición a aminas aromáticas y otras sustancias del tabaco. Algunos estudios epidemiológicos han sugerido que polimorfismos en genes relacionados con mecanismos NER podrían ejercer algún tipo de papel en el riesgo de cáncer vesical (Sanyal y cols. 2004; Sak y cols. 2005; Schabath y cols. 2005; Garcia-Closas y cols. 2006), este hecho no está aún establecido. Los procesos de reparación por escisión de bases (BER), se encargan de eliminar bases nucleotídicas dañadas por la acción de agentes alquilantes y

oxidativos. Esta vía participa de la reparación de roturas dobles de la cadena de ADN y se encarga de mantener la integridad genómica (Andrew y cols. 2006; Wu y cols. 2006). Aunque se han hecho estudios de polimorfismos en este tipo de genes en relación al cáncer de vejiga, los resultados son bastante inconsistentes.

Se ha intentado determinar la capacidad de reparación del daño al ADN tras la exposición a carcinógenos en linfocitos de sangre periférica, como medida integrada de sensibilidad a este tipo de sustancias. Los casos de cáncer de vejiga parecen ser más sensibles que los controles a los efectos del benzo(a)pireno diol epóxido (Schabath y cols. 2003). La determinación de la longitud de los telómeros también se ha usado como marcador de estabilidad genética y susceptibilidad al cáncer. Existen algunos trabajos que asocian la presencia de telómeros más cortos con el aumento del riesgo de padecer cáncer vesical (Wu y cols. 2003a; Broberg y cols. 2005).

Debido a todo lo apuntado anteriormente, en el presente trabajo se procedió a estudiar en los casos y controles de nuestro estudio la expresión de una serie de polimorfismos de genes relacionados con la eliminación de tóxicos (glutación-S-transferasa, GST), con la proliferación celular y la angiogénesis (factor de crecimiento endotelial vascular; VEGF) y con la incorporación de xenobióticos a la célula (resistencia a multidrogas; MDR) (Henriquez-Hernandez y cols. 2011b).



El cáncer vesical es el cáncer más frecuente en el tracto urinario y, como cualquier neoplasia, su etiología se relaciona con múltiples factores tanto intrínsecos como extrínsecos. Entre los factores extrínsecos, la exposición a potenciales carcinógenos ambientales se considera que contribuye de forma relevante a la mayoría de los casos de carcinomas uroteliales. En este sentido, se ha de tener en cuenta que el 90% de los tumores del tracto urinario inferior se originan a partir de células transicionales y que la superficie urotelial de la mucosa de la vejiga está expuesta a múltiples sustancias químicas que son excretadas por la orina. Muchas de esas sustancias pueden ser, *per se*, carcinógenos, o bien serlo los metabolitos generados tras sufrir procesos de biotransformación (bioactivación). Los agentes carcinógenos inducen lesiones del ADN de las células, y de este modo desencadenan y perpetúan los procesos de tumorigénesis. A día de hoy se puede afirmar que la exposición a sustancias químicas puede jugar un papel etiológico relevante en este tipo de patología tumoral. Sin embargo, parece claro que el riesgo inducido por la exposición a contaminantes ambientales carcinogénicos resulta altamente modulado por factores intrínsecos, tales como, entre otros, la capacidad individual de metabolización y biotransformación, o la expresión y actividad de factores de proliferación celular tipo *Insulin-like Growth Factors* (IGF).

La capacidad individual de metabolización y biotransformación viene marcada por la expresión de genes que codifican para enzimas de biotransformación y eliminación, de tal forma que de la actividad de estas enzimas dependen los procesos de activación y la generación de metabolitos carcinogénicos. Por ello, la distribución de determinados polimorfismos de estos genes en las diferentes poblaciones parece jugar un papel crucial en la relevancia de la exposición a carcinógenos ambientales como factor de riesgo de cáncer de vejiga.

La actividad del sistema GH-IGF, debido a su efecto como factor de proliferación celular, también se ha postulado como un potencial factor de riesgo, más aún cuando se ha descrito la posibilidad de que los niveles de IGF se vean influenciados por la exposición a contaminantes ambientales.

Diversos factores se han tenido en cuenta a la hora de plantear el presente trabajo de Tesis Doctoral:

En primer lugar, la población de las Islas Canarias es una de las pocas poblaciones españolas y europeas en las que se ha estudiado en profundidad el nivel de contaminación por compuestos tóxicos persistentes (CTPs), presentando esta población, en general, unos niveles elevados de contaminación por plaguicidas organoclorados (OCs), especialmente en la población de edad superior a los 55-60 años; y unos niveles de contaminación por contaminantes industriales clorados (bifenilos policlorados; PCBs) inferiores a los descritos en otras poblaciones occidentales, con la excepción de la población canaria fumadora, urbana y mayor de 55-60 años, que presenta niveles de contaminación similares a los de otras regiones occidentales.

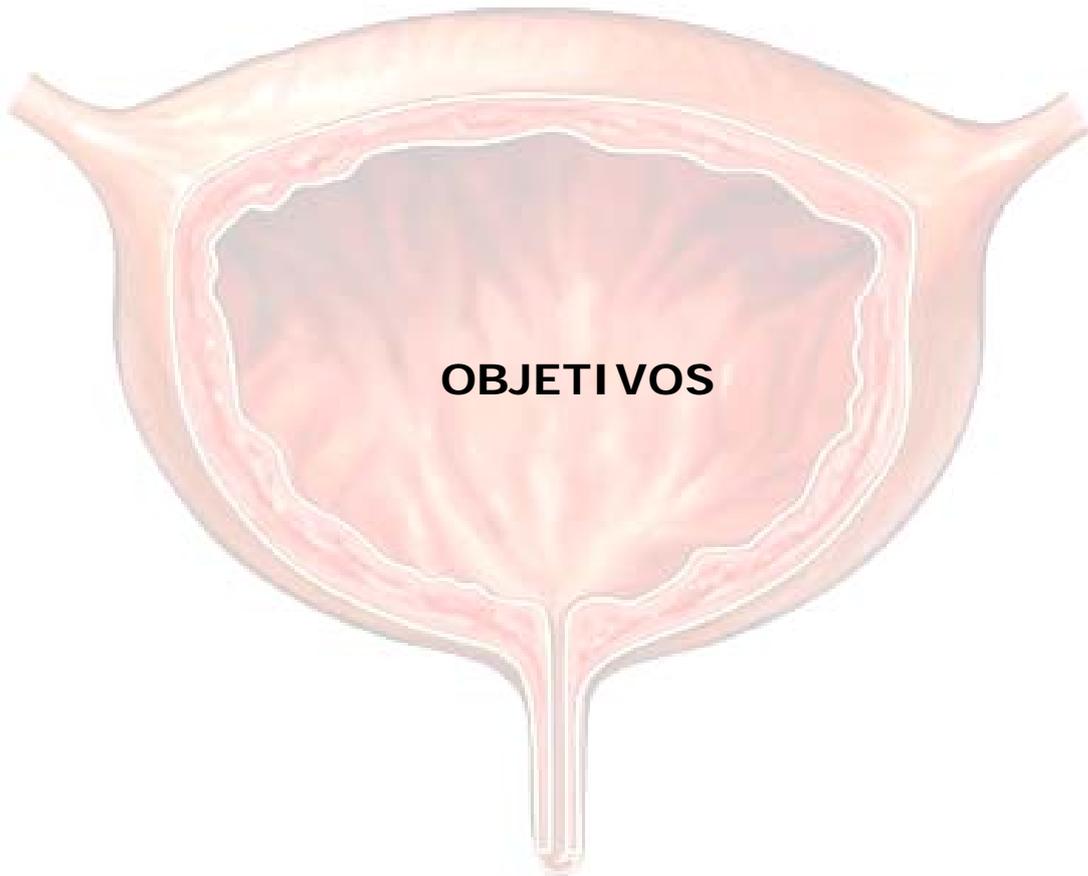
En segundo lugar, en Canarias, como en todo el mundo occidental, la incidencia de cáncer vesical ha aumentado a partir de los años 50 del pasado siglo, al igual que se ha incrementado la exposición a contaminantes químicos, ya sean de origen industrial o agrícola. A este respecto se ha de destacar que la profesión de agricultor se ha postulado como un factor de riesgo para esta patología relacionándose con una mayor exposición a plaguicidas. En las Islas Canarias, el uso de plaguicidas es muy superior al que se registra en el resto del territorio nacional, probablemente por la expansión de un modelo de cultivo intensivo (invernaderos) que se extendió exitosamente en estas islas en los últimos 50 años del siglo pasado, debido a las características geográficas y climatológicas de este territorio. Es de destacar que muchos de estos plaguicidas son considerados sustancias potencialmente carcinogénicas para el ser humano, según informes de la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (*International Agency for Cancer Research; IARC*).

En tercer lugar, la población de las Islas presenta peculiaridades en cuanto a la expresión de polimorfismos de genes de relevancia para los procesos de

metabolización y excreción, así como para los procesos de malignización y proliferación celular.

En cuarto lugar, los niveles de contaminación por CTPs y las mezclas de contaminantes existentes en la población canaria parecen modular los niveles de los factores de proliferación celular ya citados, esto es los IGF y otros factores relacionados con la GH.

En quinto lugar, hasta el momento y según nuestros conocimientos, no se han realizado estudios tendentes a evaluar la potencial relación existente entre los niveles plasmáticos de contaminantes químicos persistentes (PAHs, PCBs y OCs) con la presencia de cáncer vesical, teniendo en cuenta las variantes polimórficas de la población en lo relativo a genes de relevancia para los procesos de metabolización y tumorigénesis (GST, VEGF, MDR), así como la distribución de los niveles de IGF-I en la población estudiada.



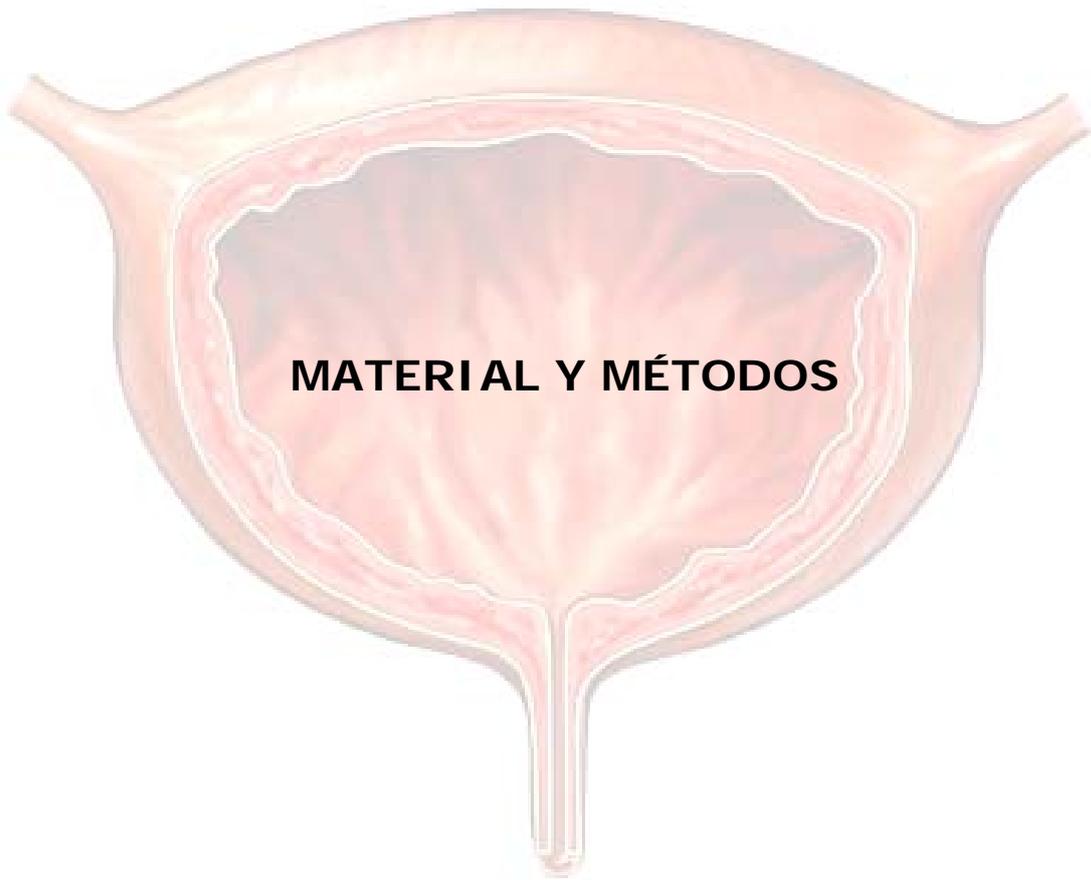
OBJETIVOS

Evaluar las diferencias existentes entre las características sociodemográficas, ambientales y dietéticas presentadas por los casos y controles (antecedentes familiares, sexo, edad, talla, peso, índice de masa corporal, profesión, consumo de café, hábito tabáquico, consumo de líquidos) y su papel como factor de riesgo de cáncer vesical.

Describir las diferencias existentes entre los casos y controles en el sistema GH-IGF (niveles séricos de *Insulin-like Growth Factor-1*, -IGF-I, e *Insulin-like Growth Factor binding protein-3*, IGFBP-3) y evaluar su potencial papel como factor de riesgo de cáncer vesical.

Describir las concentraciones de contaminantes tóxicos persistentes (CTPs) en una serie de casos de cáncer vesical y controles no afectados de esta patología mediante la cuantificación sérica de los niveles de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), bifenilos policlorados (PCBs) y plaguicidas organoclorados (OCs), y evaluar la influencia de estos CTPs como posible factor de riesgo de cáncer vesical en nuestra muestra.

Describir la expresión de polimorfismos de genes importantes en procesos de metabolización de xenobióticos y en procesos de malignización y proliferación celular en casos y controles, y evaluar su potencial valor como factor de riesgo de cáncer vesical en la población objeto de estudio.



MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha llevado a cabo en los Servicios de Urología y Medicina Preventiva del Complejo Hospitalario Universitario Materno-Insular de Gran Canaria (CHUIMI), y en el Departamento de Ciencias Clínicas de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

1. SUJETOS DEL ESTUDIO

1.1. UNIVERSO

El universo de este estudio lo han constituido todos los habitantes de la zona de referencia del CHUIMI, que incluye: Centros de Salud de Gran Canaria (Cono Sur, San Roque, Polígono de San Cristóbal, San José, Triana, Miller Bajo, Tafira, El Calero, San Gregorio, San Juan, Las Remudas, Telde, Jinámar, Valsequillo, Ingenio, Agüimes, Vecindario, Tirajana, Maspalomas y Mogán), e Isla de Fuerteventura. En total, la población de referencia la forman 395.155 habitantes de ambos sexos, según censo del 2007 (fecha de inicio del estudio).

1.2. SELECCIÓN DE CASOS

Para este estudio, se incluyeron a todos los casos incidentes y prevalentes de cáncer de vejiga, mayores de 14 años, que pertenecían al área de referencia del CHUIMI. El estudio se llevó a cabo entre febrero del 2007 y agosto del 2009 en el Servicio de Urología del CHUIMI para el tratamiento y seguimiento de cáncer vesical. Previamente a la cirugía se contactó con los pacientes seleccionados para solicitarles su colaboración en el estudio, y la firma del documento de “*Consentimiento Informado*” (ver Anexo I de la presente Tesis Doctoral), revisar los criterios de inclusión y no exclusión, cumplimiento del cuestionario y extracción de muestra de sangre. Para la recolección de datos, se elaboró un cuestionario basado en los factores de riesgo conocidos para el cáncer de vejiga. Posteriormente a la entrevista y extracción de sangre, se confirmó el diagnóstico clínico de cáncer de vejiga mediante los resultados del análisis histopatológico de los tejidos obtenidos en

quirófano según rutina del Servicio de Urología. En todos los casos se confirmó el diagnóstico de cáncer de vejiga mediante estudio histológico, por lo que no se excluyó a ninguno de los participantes por este motivo. Solo 2 casos rechazaron la participación en el trabajo por expreso deseo de no realizarse extracción de sangre alguna. Así, el número final de casos quedó establecido en 140.

Los criterios de inclusión fueron:

- Caso incidente o prevalente de cáncer de vejiga
- Edad mayor de 14 años
- Pertener al área de referencia del CHUIMI

Los criterios de exclusión fueron:

- Cáncer de vejiga secundario a otro tumor (caso secundario)
- Residencia actual fuera de la zona de referencia del CHUIMI
- Negativa a participar en el estudio
- Dificultad para la comprensión del cuestionario (dificultades idiomáticas y/o cognitivas)
- Imposibilidad de obtener muestra de sangre u orina

1.3. SELECCIÓN DE CONTROLES

Se incluyó un control hospitalario por cada caso incluido, apareados individualmente por sexo y área de residencia. Los controles del estudio se seleccionaron de un listado predefinido de diagnósticos de enfermedades no oncológicas y no asociadas a los factores de riesgo conocidos de cáncer vesical ni a la exposición a contaminantes.

Los criterios de inclusión fueron:

- Diagnóstico de ingreso NO relacionado con los factores de riesgo conocidos de cáncer vesical. Por ejemplo: traumatismos y otros problemas ortopédicos, cirugía menor, hernias, otra cirugía abdominal, problemas dermatológicos, problemas oftalmológicos, y otras enfermedades.

- Diagnóstico de ingreso NO relacionado con los factores de riesgo conocidos de exposición a contaminantes (intoxicación aguda o crónica por pesticidas)
- Edad mayor de 14 años
- Pertener al área de referencia del CHUIMI

Los criterios de exclusión fueron:

- Diagnóstico previo de cáncer de cualquier origen
- Antecedentes de hematuria
- Residencia actual fuera de la zona de referencia del CHUIMI
- Negativa a participar en el estudio
- Dificultad para la comprensión del cuestionario (dificultades idiomáticas y/o cognitivas)
- Imposibilidad de obtener muestra de sangre y orina

Tabla 5. Distribución de servicios y motivos de ingreso de los CONTROLES (n=206)

Servicio hospitalario	n	%
Servicio Médico	96	46,6
Servicio Quirúrgico	53	25,7
Servicio Médico-quirúrgico	57	27,7
Motivo de ingreso		
Cardiovasculares	50	24,3
Infecciosas	41	19,9
Litiasis	54	26,2
Traumatismos	40	19,4

La mayoría de los controles incluidos en esta Tesis Doctoral procedían de Servicios Médicos (46,6%). Así mismo, los motivos de ingreso mayoritarios fueron por litiasis (26,2%) y afectaciones cardiovasculares (24,3%). La Tabla 5 recoge de manera detallada el resto de información a este respecto.

2. DISEÑO

El presente trabajo de Tesis se ha diseñado como un estudio de casos y controles de base hospitalaria. Para la recolección de datos, se elaboró un cuestionario (cuestionario contenido en el Anexo II de esta Tesis Doctoral). Dicho cuestionario estuvo basado en los factores de riesgo conocidos para la génesis y desarrollo de cáncer vesical, en el cuestionario desarrollado para el estudio EPICURO y por último en la hoja de recogida de datos de la Encuesta Nutricional de Canarias (Estudio ENCA).

Para evaluar el nivel de comprensibilidad de las preguntas, se llevó a cabo un estudio piloto en una muestra de pacientes ingresados en el Servicio de Urología del CHUIMI. El cuestionario se suministró por un profesional sanitario específicamente formado.

Para la selección de casos, un miembro del Servicio de Urología del CHUIMI revisó, de lunes a viernes, la lista de pacientes programados para cirugía o revisión en Pruebas Funcionales de Urología para cistoscopias.

Una vez seleccionados los sujetos incluidos en el estudio, el autor de esta Tesis o personal de enfermería previamente adiestrado informaba a los mismos del objetivo del estudio y sus pormenores, y les facilitaba el documento de "*Consentimiento informado*". Dicho consentimiento, aprobado por la Comisión de Ética de este Complejo Hospitalario se muestra en el Anexo I. A continuación se les explicaba el cuestionario que debían contestar (ver Anexo II) y se aclaraban las dudas al respecto, dando tiempo al paciente para que lo cumplimentara adecuadamente.

Se ha de resaltar que la correcta cumplimentación del cuestionario es uno de los pasos críticos en un estudio de casos y controles. Como ya se ha dicho el sesgo de información es uno de los principales problemas que se plantea en este tipo de

estudios. Puesto que los casos se reclutan únicamente una vez presentan la enfermedad, con frecuencia refieren cualquier exposición de forma más cuidadosa y detallada por la natural tendencia a hallar una explicación a su padecimiento. Otro problema adicional es que el entrevistador no es ciego a la situación de caso o control del paciente entrevistado, por lo que puede contribuir de forma inconsciente a diferencias sistemáticas en la información procedente de casos y controles (por ejemplo mediante una entrevista más intensa a los casos).

En nuestro estudio, mediante entrevista directa y cuestionario se recogieron datos demográficos y socioeconómicos (edad, sexo, actividad profesional, procedencia geográfica, lugar de residencia los últimos cinco años, nivel cultural y social, etc.), datos antropométricos (peso y talla), antecedentes personales y familiares (de patologías tumorales u otras enfermedades), datos sobre hábitos (tabaco, alcohol, consumo de agua, café y otras bebidas, etc.).

Por cada caso incluido, se seleccionó un control emparejado por sexo, y área de residencia, tal y como ya se ha dicho. Para ello, se revisaron diariamente los pacientes ingresados en los servicios de cirugía general, oftalmología, traumatología, dermatología, neurocirugía y cirugía mayor ambulatoria del CHUIMI. Se procedió a la selección de aquellos controles que cumplían los criterios de inclusión y no exclusión.

Una vez incluidos los pacientes (casos y controles) definitivamente en el estudio se procedía a la recogida de una muestra de sangre por parte del personal de Enfermería del Servicio de Urología del CHUIMI. Las muestras se mantuvieron refrigeradas en tubos de vidrio con oxalato cálcico, hasta su centrifugación (3000 x g) para la obtención de suero por el autor de esta Tesis. En ningún caso transcurrieron más de 8 h. entre la recogida de la muestra y la obtención de suero. El sobrenadante (elementos formes) y cada una de las muestras de suero fueron entonces cuidadosamente etiquetadas mediante el nº de Historia Clínica del paciente y trasladadas al Laboratorio de Toxicología del Departamento de Ciencias Clínicas de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, donde se llevó a cabo

de forma inmediata la extracción de ADN en los sobrenadantes (en aquellos casos y controles que se incluyeron en el estudio de polimorfismos), mientras que las restantes muestras de suero permanecieron congeladas a -80 °C hasta la realización del análisis toxicológico. El personal del laboratorio desconocía la identidad de las muestras, para asegurar que los análisis se realizaban de manera ciega.

3. VARIABLES

Se recogieron las siguientes variables que fueron codificadas de la siguiente forma en una base de datos diseñada al efecto:

3.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS

Datos administrativos:

Nº de historia clínica: único en el hospital. Se comprobaba en cada caso que a la persona entrevistada correspondían nombre, apellidos y número de seguridad social.

Fecha de la entrevista (fecha entrada en el estudio): recogida como dd/mm/aaaa.

Servicio responsable del ingreso actual y motivo de ingreso: según criterio del médico responsable del paciente.

Edad: recogida como fecha de nacimiento (dd/mm/aaaa).

Sexo (1 = varón; 2 = mujer).

Talla actual en centímetros: habitualmente registrada por el servicio de anestesia, o en su defecto, en el momento de la entrevista.

Peso actual en kilogramos: registrada por el servicio de anestesia, o en su defecto, en el momento de la entrevista (recogida hasta decigramos).

Domicilio actual: en el cual residía al menos durante el último año, comprobándose así el cumplimiento de ese criterio de inclusión. Se procedió a codificar el lugar de residencia de la siguiente forma: área urbana (>100.000

habitantes), área semirural (10.000-100.000 habitantes) o área rural (<10.000 habitantes).

Domicilios anteriores en los que residió más de un año (codificado según área urbana (>100.000 habitantes), semirural (10.000-100.000 hab) o Rural (<10.000 hab)).

Los datos demográficos de la población control están resumidos en la Tabla 6. De los 206 individuos incluidos, 168 eran hombres (81,6%). La media de edad de la población control fue de 65.1 años, estando casi un tercio de la misma contenida en el segmento de edad comprendido entre los 61 y los 70 años (64 individuos). El peso medio fue de casi 76 kilogramos, mientras que la estatura media de la población control fue de 169 centímetros. Así, más de la mitad de la población registró un índice de masa corporal (IMC) comprendido entre los 25 y los 29,99 kg/m² (107 individuos, 51,1%), que es considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como sobrepeso. La mayoría de los individuos eran de la isla de Gran Canaria y habitan en entornos urbanos (161 sujetos, 78,2%) con más de 100.000 habitantes.

Los datos demográficos de la población de casos están resumidos en la Tabla 7. La edad media de los casos era de 66.7 años, siendo la mayoría de ellos varones (85,7%). La mitad de la población presentaba sobrepeso (70 sujetos, 50%), vivía en la isla de Gran Canaria y habitaba entornos urbanos.

Tabla 6. Análisis descriptivo de las variables demográficas de la población control (n = 206)

Variable	N	(%)	Media ± SD	Mediana (Rango)
Sexo				
Hombre	168	81,6		
Mujer	38	18,4		
Edad (años)			65,1 ± 13,2	67 (37-93)
<50	40	19,4		
51-60	29	14,1		
61-70	64	31,1		
71-80	45	21,8		
>80	28	13,6		
Peso (Kg)			75,9 ± 12.1	72,5 (49-120)
Altura (cm)			169 ± 8,3	170 (150-188)
IMC (Kg/m2)			26,3 ± 3,3	25,9 (19-40)
<20	2	1,0		
20-24.99	72	35,0		
25-29.99	107	51,9		
>30	25	12,1		
Isla				
Gran Canaria	202	98,1		
Fuerteventura	4	1,9		
Entorno				
Rural	7	3,4		
Semirural	38	18,4		
Urbano	161	78,2		

Abreviaturas: SD, desviación estándar; IMC, índice de masa corporal.

Tabla 7. Análisis descriptivo de las variables demográficas de la población de casos (n = 140)

Variable	N	(%)	Media ± SD	Mediana (Rango)
Sexo				
Hombre	120	85,7		
Mujer	20	14,3		
Edad (años)			66,7 ± 12,1	67 (41-92)
<50	13	9,3		
51-60	30	21,4		
61-70	42	30,0		
71-80	36	25,7		
>80	19	13,6		
Peso (Kg)			78,6 ± 11,5	79,0 (56-120)
Altura (cm)			172 ± 6,7	172 (153-189)
IMC (Kg/m2)			26,4 ± 3,6	25,8 (19-41)
<20	2	1,4		
20-24.99	51	36,4		
25-29.99	70	50,0		
>30	17	12,1		
Isla				
Gran Canaria	134	95,7		
Fuerteventura	6	4,3		
Entorno				
Rural	4	2,9		
Semirural	34	24,3		
Urbano	102	72,9		

Abreviaturas: SD, desviación estándar; IMC, índice de masa corporal.

3.2. FACTORES DE RIESGO

Se preguntó sobre las profesiones que han demostrado asociación con el uso de contaminantes orgánicos persistentes: agricultura, industria química, conductor/maquinista, pintor y turismo. Profesiones que el individuo ejerció durante más de un año, a lo largo de su vida profesional.

Así mismo se preguntó sobre el uso de pesticidas en el tiempo libre codificando esta variable en: con frecuencia, esporádicamente o nunca.

Se interrogó sobre el hábito tabáquico actual y pasado haciendo uso del cuestionario validado por la OMS.

Se preguntó con qué frecuencia acostumbra a tomar una serie de bebidas, debiendo responder si no los toma nunca (n), diariamente (d), semanalmente (s), mensualmente (m) o anualmente (a) y cuántas veces los toma: Bebidas refrescantes con gas (1 vaso), bebidas refrescantes sin gas (1 vaso), café normal-con cafeína (1 taza), café descafeinado (1 taza), té (1 taza), cerveza (1 vaso), vino (1 vaso); otras bebidas alcohólicas (1 copa), agua del grifo (1 vaso), agua mineral sin gas (1 vaso), agua mineral con gas (1 vaso).

Por último, se interrogó sobre el antecedente familiar en parientes de primer grado de cáncer vesical o vías urinarias.

La Tabla 8 contiene una descripción de los factores de riesgo para cáncer vesical determinados en esta Tesis Doctoral para la población control. Más de un tercio de los sujetos (70,34%) realizaban alguna de las profesiones consideradas de riesgo para el desarrollo de cáncer vesical. De ellas, las más comúnmente realizadas eran las de agricultor (13,6%) y chófer (9,7%). Únicamente el 16% de los individuos (n = 33) hacía uso de pesticidas, siendo la frecuencia de utilización de los mismos baja. El 35% de los sujetos (n = 72) se declaró como no fumador en el momento de la recogida de los datos. De entre los fumadores, destacar que la media de años fumando fue de 45,8 años, con un consumo medio de cigarrillos diario de 15,7. El número de paquetes al año es una manera de registrar la intensidad del hábito tabáquico. Así, la media de paquetes al año para la población control fue de 37,5 (rango 3-300). La ingesta media de líquidos al día fue de 1063,2 ml.

Únicamente 23 sujetos (11,2%) declaró consumir más de 1,5 litros de líquidos al día. El agua mayoritariamente consumida era la embotellada sin gas, tomada por el 67,0% de los sujetos (n = 138) con una media de ingestión de 219,4 ml al día. Únicamente un individuo declaró haber tenido un familiar en primer grado con cáncer vesical.

La Tabla 9 contiene una descripción de los factores de riesgo para cáncer vesical en la población de casos. Casi la mitad de los sujetos (66, 47,1%) realizaban alguna de las profesiones consideradas de riesgo. Las más comúnmente realizadas eran las de agricultor (18,6%) y chófer (17,9%). El porcentaje de individuos que hacía uso de pesticidas fue del 23.6% (n = 33), siendo la frecuencia de utilización de los mismos baja en cualquier caso. Solo el 15,7% de los sujetos (n = 22) se declaró como no fumador en el momento de la recogida de los datos. De entre los fumadores, la media de años fumando fue de 48,3 años, con un consumo medio de cigarrillos diario de 15.8. El número de paquetes al año fue de 36.6. La ingesta media de líquidos al día fue de 1028,1 ml. Solo 17 sujetos (12,1%) declaró consumir más de 1,5 litros de líquidos al día. El agua mayoritariamente consumida era la embotellada sin gas, tomada por el 68,6% de los sujetos (n = 96) con una media de ingestión de 508,5 ml al día. Diez individuos (7,1%) declararon haber tenido un familiar en primer grado con cáncer vesical.

Tabla 8. Descripción de factores de riesgo de la población control (n = 206)

Variable	N	(%)	Media ± SD	Mediana (Rango)
Profesión de riesgo				
Sí	70	34,0		
Agricultura	28	13,6		
Industria Química	6	2,9		
Chófer	20	9,7		
Pintor	3	1,5		
Turismo	14	6,8		
No	136	66,0		
Uso de pesticidas				
Si	33	16,0		
Frecuencia (>1 vez/mes)	11	5,3		
No	173	84,0		
Hábito tabáquico				
No fumador	72	35,0		
Exfumador	25	12,1		
Fumador	109	52,9		
Nº de cigarrillos			15,7 ± 14,7	15 (1-100)
Paquetes/año*			37,5 ± 42,8	30 (3-300)
Años fumando**			45,8 ± 12,4	46 (17-75)
Ingesta de líquidos			1063,2 ± 387,4	998,8 (435-2785)
≥1,5 litros/día	23	11,2		
Agua del grifo (ml/día)	42	20,4	92,8 ± 207,6	0 (0-1200)
Agua embotellada sin gas (ml/día)	138	67,0	469,9 ± 422,9	600 (0-2000)
Agua embotellada con gas (ml/día)	64	31,1	219,4 ± 359,9	0 (0-1600)
Café con cafeína	126	61,2		
Antecedentes cáncer vesical	1	5		

Abreviaturas: SD, desviación estándar; IMC, índice de masa corporal.

Calculado como: (nº de cigarrillos x años fumando) / 20.

** Calculado como: edad – edad de inicio del hábito tabáquico.

Tabla 9. Descripción de factores de riesgo de la población de casos (n = 140)

Variable	N	(%)	Media ± SD	Mediana (Rango)
Profesión de riesgo				
Sí	66	47,1		
Agricultura	26	18,6		
Industria Química	5	3,6		
Chófer	25	17,9		
Pintor	8	5,7		
Turismo	9	6,4		
No	74	52,9		
Uso de pesticidas				
Si	33	23,6		
Frecuencia (>1 vez/mes)	9	6,4		
No	107	76,4		
Hábito tabáquico				
No fumador	22	15,7		
Exfumador	54	38,6		
Fumador	64	45,7		
Nº de cigarrillos			15,8 ± 16,5	10 (1-100)
Paquetes/año*			36,6 ± 41,0	26 (2-220)
Años fumando**			48,3 ± 13,0	49 (21-80)
Ingesta de líquidos			1028,1 ± 389,0	985 (153-2135)
≥1.5 litros/día	17	12,1		
Agua del grifo (ml/día)	36	25,7	128,6 ± 243,5	0 (0-1200)
Agua embotellada sin gas (ml/día)	96	68,6	508,5 ± 459,8	600 (0-2000)
Agua embotellada con gas (ml/día)	36	25,7	157,1 ± 320,7	0 (0-2000)
Café con cafeína	101	72,1		
Antecedentes cáncer vesical	10	7,1		

Abreviaturas: SD, desviación estándar; IMC, índice de masa corporal.

** Calculado como: (nº de cigarrillos x años fumando) / 20.

* Calculado como: edad – edad de inicio del hábito tabáquico.

3.3. VARIABLES CLÍNICAS (Solo entre los casos)

El diagnóstico de cáncer vesical se confirmaba con biopsia valorada e informada desde el Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil. La clasificación TNM se realizó de acuerdo a las directrices dadas por la OMS del 2002. Se recogió la anatomía patológica de la última resección transuretral de vejiga o de la cistectomía. La Tabla 10 muestra la distribución de las principales variables histológicas de los tumores de los pacientes. La mayoría de los tumores (n = 79, 56,4%) no invadían la lámina propia de la vejiga (Ta), que constituye el tipo de tumor más agresivo. Tras él, el tamaño tumoral T1 fue el más frecuentemente detectado (n = 36, 25,7%). Esto hace que la mayoría de los pacientes fueron detectados en estadios bastante precoces de la enfermedad. De la misma forma, solo dos pacientes presentaban afección de ganglios linfáticos (N1 y N2). Ninguno de ellos presentó metástasis en el momento del diagnóstico. La mayoría de los tumores estaban moderadamente diferenciados (GII, n = 77, 55,0%), aunque un 28,6% de los casos presentaban tumores pobremente diferenciados (GIII).

3.3.1. *Tratamiento de los pacientes.*

Todos los pacientes fueron diagnosticados mediante ecografía, urografía intravenosa, cistoscopia o mediante la combinación de estas técnicas. No se realizó en ningún caso diagnóstico por biopsia. Los pacientes una vez diagnosticados fueron remitidos a cirugía y tratados mediante resección transuretral de vejiga. El paciente era sometido a raquianestesia y en posición de litotomía se procedió a la resección del tumor haciendo uso de un resector por vía uretral. La pieza quirúrgica era posteriormente remitida al Servicio de Anatomía Patológica para su análisis.

Los pacientes N+ o con tamaños tumorales mayores a T2, eran sometidos a cistectomía radical, técnica quirúrgica de cirugía abierta en la que se extirpaba por completo la vejiga, la próstata o el útero (según sexo del paciente), las vesículas seminales u ovarios (según sexo del paciente) y los ganglios linfáticos.

Tabla 10. Descripción de las variables patológicas

Variable	N	(%)
Tamaño tumoral (T)		
In situ	1	0,7
Ta*	79	56,4
T1	36	25,7
T2	17	12,1
T3	2	1,4
T4	2	1,4
ND**	3	2,1
Afección de ganglios (N)		
N0	138	98,6
N1	1	0,7
N2	1	0,7
Metástasis (M)		
M0	140	10,0
M1	0	0
Grado de diferenciación (G)		
I	19	13,6
II	77	55,0
III	40	28,6
ND	4	2,9

Abreviaturas:

Ta*: tumor que no invade la lámina propia;

ND**: no determinado.

3.4. VARIABLES ANALÍTICAS

3.4.1. Análisis de los niveles de contaminantes ambientales (plaguicidas organoclorados, bifenilos policlorados e hidrocarburos aromáticos policíclicos) en suero.

La determinación de los contaminantes orgánicos persistentes se realizó a partir del suero tomado tanto en las muestras del grupo control como de casos. Se determinó un total de 52 contaminantes distintos tal y como se detalla en el Anexo III de esta Tesis Doctotal.

La determinación de los niveles séricos de los contaminantes ambientales incluidos en este estudio se llevó a cabo mediante Cromatografía de Gases (GC) acoplada a Espectrometría de Masas de simple Cuadrupolo (GC-MS) tras extracción previa de los mismos mediante extracción en fase sólida (SPE) empleando para ello la metodología estandarizada y puesta a punto por investigadores del Grupo de Investigación en Medio Ambiente y Salud del Departamento de Ciencias Clínicas de esta Universidad.

En el procedimiento de extracción en fase sólida de los contaminantes del suero, se sometieron las alícuotas de suero (2 ml) a una extracción mediante columnas C18 (200 mg (3 ml) Chromabond[®] C18ec columns (Macherey-Nagel, Alemania), previamente acondicionadas con metanol (3 ml) y agua ultrapura (3 ml) bajo vacío a un flujo de 1,5 ml/min. Las columnas C18 se montaron en una estación de vacío (Waters Corporation, EE.UU.) y se hizo pasar la muestra a un flujo de 0,5 ml/min. Posteriormente, las columnas se lavaron con 3 ml de agua al 5% de metanol y las columnas fueron desecadas bajo vacío durante 15 min. Los contaminantes retenidos en la columna fueron eluidos mediante 2 lavados consecutivos con 2 ml de diclorometano. El solvente obtenido tras la extracción se evaporó a sequedad mediante corriente de nitrógeno, para ser posteriormente solubilizado en 200µl of ciclohexano, que fue la muestra empleada en el análisis cromatográfico (Luzardo y cols. 2009; Henríquez-Hernández y cols. 2011a).

Los analitos cuantificados en el presente estudio incluyen:

1. Los 16 Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) más prevalentes y de mayor relevancia ambiental que son el naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, antraceno, fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo[*a*]antraceno, criseno, benzo[*b*]fluoranteno, benzo[*k*]fluoranteno, benzo[*a*]pireno, indeno[1,2,3-*c,d*]pireno, dibenzo[*a,h*]antraceno, benzo[*g,h*]perileno.
2. Los plaguicidas organoclorados (POCs), tipo difenilalifáticos: como metoxicloro y difeniltricloroetano (*p,p'*-DDT) y sus metabolitos difenildicloroetileno (*p,p'*-DDE), y difenildicloroetano (*p,p'*-DDD); el contaminante ambiental altamente persistente y acumulativo hexachlorobenceno (HCB); los cuatro isómeros derivados del hexaclorociclohexano (alfa-, beta-, gamma- y delta-HCHs); los ciclodienos dieldrin, aldrin, endrin, heptacloro (y sus metabolitos), mírex, clordano (isómeros cis y trans) y endosulfan (isómeros alfa y beta).
3. Los principales congéneres de bifenilos policlorados (PCBs; nº IUPAC: #28, 52, 77, 81, 101, 105, 114, 118, 123, 126, 138, 153, 156, 157, 167, 169, 180 y 189). Este grupo de PCBs cuantificados en este trabajo incluye dos grupos: de un lado aquellos congéneres más prevalentes y que se consideran marcadores de contaminación ambiental por PCBs y que son los denominados PCBs-Marcadores (M-PCBs; congéneres #28, 52, 101, 118, 138, 153 y 180); y por otro lado hemos incluido en este estudio los PCBs de acción similar a las dioxinas (*dioxin-like PCBs*; DL-PCBs: #77, 81, 105, 114, 118, 123, 126, 156, 157, 167, 169 y 189).

Se realizaron cálculos previos de recuperación de estos analitos en muestras de suero “blancas”, contaminadas con mezclas de los mismos a dos

concentraciones conocidas diferentes, obteniéndose valores de recuperación de entre 89-107% para los PAHs, >85% para todos los POCs y de un 87-101% para los congéneres de PCBs.

Los análisis cromatográficos para la determinación de COPs fueron realizados en un cromatógrafo de gases acoplado en tándem a un espectrómetro de masas de simple cuadrupolo Thermo-Finnigan TRACE DSQ (GC/MS), tal y como ha sido previamente descrito (Luzardo y cols. 2009). Se inyectó un volumen de 2 μ l de los estándares o muestras en modo splitless. Se realizaron 3 análisis cromatográficos por muestra, con el fin de obtener los espectros de masas en dos modos de ionización diferentes. Las temperaturas del horno del cromatógrafo se programaron de la siguiente manera: inicialmente la temperatura fue de: 80°C durante 1 min, seguido de un incremento de 10°C/min hasta alcanzar los 300°C, temperatura a la que permaneció durante 9 minutos más. En total cada carrera cromatográfica duró 30 minutos. En ese punto las compuertas traseras del horno se abrieron y el ventilador se puso en marcha permitiendo el enfriamiento de la cámara hasta 80°C, dejándolo preparado para un nuevo análisis. La temperatura del puerto de inyección Split/splitless del cromatógrafo se programó a 250°C con el fin de facilitar la volatilización de todos los analitos objeto de estudio, incluidos aquellos con mayor número de átomos de cloro en su estructura. La temperatura de la línea de transferencia que conecta el cromatógrafo con el espectrómetro de masas se programó a 310°C.

Para los congéneres de PCBs 28, 52, 101, y 118, para los PAHs y para los POCs 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, 2,4'-DDE, 4,4'-DDE y metoxicloro, los espectros de masas se obtuvieron en el modo de ionización por impacto electrónico (GC/EIMS) a 70 eV, con una temperatura de la fuente de iones de 200°C.

Para el resto de COPs incluidos en este estudio los espectros de masas se obtuvieron en el modo de ionización química negativa (GC/NCIMS), usando metano como gas de ionización, a un flujo de 2,5 ml/min, en dos carreras cromatográficas diferentes. La primera se hizo para la obtención de datos correspondientes a los

siguientes analitos: aldrina; dieldrina; endrina; heptacloro; cis-clordano; trans-clordano; alfa endosulfán; beta endosulfán; alfa hexaclorociclohexano; beta hexaclorociclohexano; lindano; delta hexaclorociclohexano; hexaclorobenceno. La segunda carrera cromatográfica en modo GC/NCIMS se realizó para la obtención de datos de los congéneres de PCBs 77, 81, 105, 114, 123, 126, 138, 153, 156, 157, 167, 169, 180 y 189.

El espectrómetro de masas se programó para que realizara la adquisición de datos en el modo de monitorización de iones seleccionados (SIM). Con el fin de lograr la máxima sensibilidad para cada analito la adquisición de datos se programó por segmentos de tiempo, de manera que en cada segmento se incluyera la adquisición de datos para un máximo de 2 analitos, si bien para la mayor parte de ellos la adquisición se hizo de forma individual.

Para el estudio de los tiempos de retención en columna de cada compuesto de interés, la selección de los iones a monitorizar y las abundancias relativas de los mismos, se hizo un estudio previo con patrones certificados individuales de cada analito.

Los patrones se inyectaron en el cromatógrafo de forma individual bajo las mismas condiciones cromatográficas que se usarían posteriormente en el análisis de muestras y en ambos modos de ionización, con el fin de determinar cuáles eran las condiciones óptimas de sensibilidad para cada uno de ellos. De esta manera se inyectó en el cromatógrafo 2 µl de una solución preparada a 1 µg/ml en ciclohexano de cada analito o estándar interno utilizado en este estudio. La adquisición de datos del espectrómetro de masas se programó en este caso en el modo de barrido completo en rango de 50 a 600 m/z. Partiendo de los espectros de masas obtenidos se seleccionaron 3 iones característicos para cada analito. Se seleccionó como ión cualificador aquel que presentaba una abundancia del 100% y se calcularon las abundancias relativas de los iones seleccionados para confirmación y cuantificación con respecto a éste.

Consideramos como límite de cuantificación (LOQ) un valor 5 veces superior al límite de detección (LOD) de cada analito. El LOQ fue de 0.05 mg/ml para los PAHs, de 0,01 ng/ml para el 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, 2,4'-DDE, 4,4'-DDE, metoxicloro y PCBs 28, 52, 101, 118 y 138, de 0,005 ng/ml para los PCBs 153 y 180, y de 0,001 ng/ml para el resto de los analitos.

La cuantificación se basó en el factor resultante de dividir el área del analito por el área del estándar interno y se realizó frente a una recta de calibrado de 6 puntos a partir de muestras de suero fortificadas en un rango de concentraciones que fue desde el LOQ de cada analito hasta 20 ng/ml. Para la cuantificación se usó el programa Xcalibur versión 2.11 de ThermoFisher Scientific Corporation (San José, EE.UU.).

3.4.2. Factor de crecimiento dependiente de insulina tipo I (IGF-I) proteína transportadora tipo 3 del factor de crecimiento dependiente de insulina (IGFBP-3)

El factor de crecimiento para la insulina I fue determinado mediante medición cuantitativa en suero heparinizado de los pacientes haciendo uso de un analizador IMMULITE 2000®. Se trata de una prueba inmunométrica quimioluminiscente marcada enzimáticamente, de fase sólida.

La medición cuantitativa de IGFBP-3 se realizó de la misma manera en un IMMULITE 2000® siguiendo las instrucciones del fabricante, en el Servicio de Análisis Clínico del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria.

3.5. VARIABLES GENÉTICAS

El ADN se extrajo a partir de la muestra de sangre de cada paciente, haciendo uso de un kit específico de aislamiento de ADN de sangre de mamíferos (Roche, Indianápolis, IN). Tras el aislamiento, se procedió al cuantificado y posterior conservado de la muestra a -20°C.

La determinación de los polimorfismos GSTM1 y GSTT1 se realizó por PCR de tipo multiplex según lo previamente publicado por Kim y cols. haciendo uso de la pareja de *primers* detallada en la Tabla 11 (Kim y cols. 2000). Un total de 100 ng de ADN se amplificaron en un volumen total de reacción de 25 µl tal y como se detalla a continuación: desnaturalización inicial a 94°C durante 3 minutos; amplificación con 35 ciclos a 94°C durante 45 segundos, 60°C durante 45 segundos y 74°C durante 45 segundos; y una fase de elongación final a 74°C durante 5 minutos. Se introdujo un control interno amplificando el gen beta-2-microglobulina (*beta_{2m}*). El genotipado de GSTM1 y GSTT1 no se realizó si no amplificaba correctamente el control interno.

Tabla 11. Detalles técnicos de la PCR-RFLP

Gen	Polimorfismo	Primers (5'-3')	Producto de PCR (bp)	Enzima de restricción (Tª)	Producto digestión (bp)
GST	GSTM1	^a GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC ^b GTTGGGCTCAAATATACGGT	248	Mbo I (37C)	(+) = 210
	GSTT1	^a TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC ^b TCACCGGATCATGGCCAGCA			(+) = 473
MDR1	C3435T	^a TGCTGGTCCTGAAGTTGATCTGT GAAC ^b ACATTAGGCAGTGACTCGAT GAAGGCA	422	Bgl II (37C)	C/C = 170, 60; T/T = 238 C/T = 238, 170, 60
VEGF	A2578C	^a ATAAGGGCCTTAGGACACCA ^b GCTACTTCTCCAGGCTCACA	120		A/A = 422; C/C = 264, 158 A/C = 422, 264, 158
beta _{2m}		^a ACCCCACTGAAAAAGATGA ^b ATCTTCAAACCTCCATGATG			

beta_{2m}, beta-2-microglobulina; ^aForward primer; ^bPrimer Reverso.

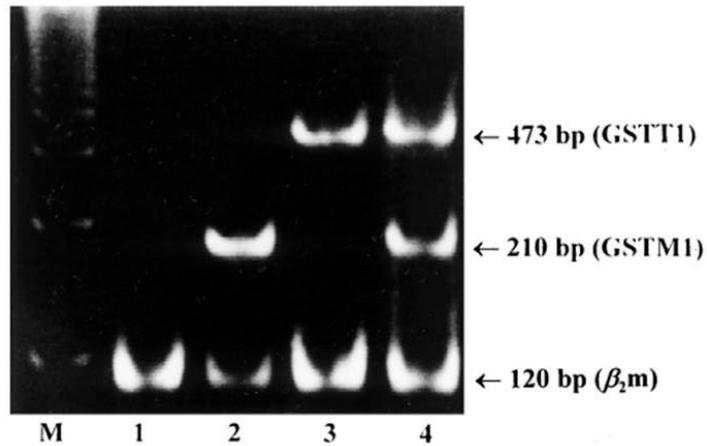


Figura 15. Imagen de un gel de poliacrilamida al 9% que muestra el genotipado de GSTM1 y GSTT1. La ausencia de la banda de 473 pares de bases (bp) indica nulidad para GSTT1; la ausencia de la banda de 210 bp indica nulidad para GSTM1; el control positivo (β_2m) fue coamplificado en todas las muestras. Línea M, marcador de peso molecular; línea 1, GSTT1-nulo/GSTM1-nulo; línea 2, GSTT1-nulo/GSTM1-positivo; línea 3, GSTT1-positivo/GSTM1-nulo; línea 4, GSTT1-positivo/GSTM1-positivo.

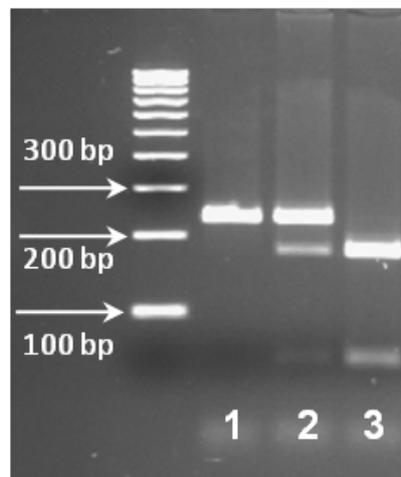


Figura 16. Imagen de un gel de agarosa al 2% que muestra el genotipado del polimorfismo MDR1 C3435T. Línea 1, T/T; línea 2, C/T; línea 3, C/C. Se incluye además el marcador de peso molecular.

El polimorfismo C3435T del gen MDR1 y el polimorfismo A2578T del gen VEGF se determinaron por PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) según lo previamente publicado (Kim y cols. 2005; Henriquez-Hernandez y cols. 2009). Las condiciones de la PCR para el polimorfismo MDR1 C3435T fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 94°C durante 2 minutos; amplificación con 35 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 60°C durante 30 segundos y 72°C durante 30 segundos; y una fase de elongación final a 74°C durante 4 minutos (Henriquez-Hernandez y cols. 2009).

Las condiciones de la PCR para el polimorfismo VEGF A2578T fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos; amplificación con 35 ciclos a 95°C durante 15 segundos, 60°C durante 30 segundos y 72°C durante 30 segundos; y una fase de elongación final a 74°C durante 8 minutos (Kim y cols. 2005). Para ambos polimorfismos, el amplicon generado fue posteriormente digerido con la enzima de restricción adecuada (New England BioLabs, Ipswich, MA), tal y como se detalla en la Tabla 10. El producto de digestión se analizó mediante electroforesis en gel de agarosa de tipo *low melting* al 2-3% con bromuro de etidio (Pierce, Rockford, IL), y posterior visionado bajo luz ultravioleta haciendo uso de un Sistema ChemiDoc (Bio-Rad, Hercules, CA). El resto de los materiales usados en las reacciones de PCR fueron suministrados por Applied Biosystems (AmpliAq Gold polimerasa, oligonucleótidos, 10X buffer de reacción).

3.6. ANALISIS ESTADÍSTICO

Los formularios de recogidas de datos, han sido informatizados en una base de datos diseñada al efecto, manteniendo en todo momento la confidencialidad de los pacientes. La clasificación de los pacientes, como caso o control, se ha realizado de tal manera que se asegure el ciego de la persona que ha analizado dichos datos.

Los análisis estadísticos de la presente Tesis Doctoral se han llevado cabo con el programa informático *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS; versión 17.0; SPSS, Chicago, IL).

Las variables estudiadas han sido de dos tipos: continuas y discretas. Se estudió si las variables continuas se ajustaban o no a una distribución normal haciendo uso del test de Kolmogorov-Smirnov. El ajuste de las variables continuas a la distribución normal condiciona los subsecuentes análisis estadísticos.

Las variables continuas se expresan mediante media (desviación típica) si siguen una distribución normal o mediante medianas (rango intercuartil, percentiles 25 y 75) si siguen una distribución asimétrica. Las diferencias de las medias de dos o más variables de distribución normal se llevaron a cabo mediante la prueba t de student (t-test) o prueba ANOVA según se compararan dos o más variables. Para variables continuas de distribución no normal, los test estadísticos empleados para determinar diferencias significativas entre ellas fueron U de Mann-Whitney y H de Kruskal-Wallis, según se usaran dos o más variables de agrupación.

Las variables categóricas se expresan mediante porcentajes. Las diferencias en estas variables entre casos y controles se evaluaron mediante la prueba de Chi-cuadrado (χ^2). En concreto, la prueba de χ^2 se empleó para determinar diferencias en frecuencias alélicas entre casos y controles en el análisis de polimorfismos. Además este test de χ^2 se empleó en el análisis de polimorfismos también para determinar la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg.

El coeficiente de correlación de Pearson o de Spearman se usó cuando se estudió la correlación entre variables continuas.

Para valorar el potencial efecto de los contaminantes o alguna de las otras variables estudiadas (por ejemplo el consumo de café o el hábito tabáquico) sobre el riesgo de padecer cáncer de vejiga, se emplearon métodos multivariantes basados en modelos de regresión logística multinomial ajustando por las covariables adecuadas según se precisara, para así calcular la “*odds ratio*” y su correspondiente intervalo de confianza al 95%.

Todos los análisis fueron de dos colas y se consideraron significativos si el valor de p era menor de 0,05.

3.7. DIFICULTADES Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La principal limitación de los estudios de casos y controles, es la presencia de sesgos. Entre ellos destacan: sesgo de selección, sesgo de clasificación y efectos indeseables del emparejamiento.

Sesgo de selección: es un sesgo frecuente cuando los casos son personas ingresadas en hospital, ya que es posible que sólo una proporción de los diagnósticos de cáncer vesical se hagan en el servicio de urología del CHUIMI mientras que el resto de los casos de cáncer vesical acudan preferentemente a otros centros. Podría surgir un problema si el hecho de que un paciente con cáncer vesical acudiera al servicio de urología del CHUIMI estuviera relacionado con la exposición del estudio. Sin embargo, debido a que la exposición fundamental del estudio es la exposición a pesticidas, y dicha exposición está generalizada en la población general, de forma inadvertida, como han demostrado investigadores del presente estudio, dicho sesgo es muy improbable. Sin embargo, y para minimizar este posible sesgo, la selección de controles fue emparejada por área de residencia, y se seleccionaron entre personas ingresadas durante el mismo periodo en el CHUIMI por otras causas y en distintos servicios, excluyendo diagnósticos relacionados positivamente o negativamente con el factor de riesgo en estudio. Otra posible limitación relacionada con un sesgo de selección serían las negativas a participar, generalmente más frecuentes entre los controles, pudiéndose dar el caso de que el hecho de no participar esté relacionado con la exposición. Para evitar esta limitación, el encuestador fue un profesional sanitario, lo cual puede reforzar la participación de los sujetos (casos y controles) al estar en un ambiente hospitalario. De todas maneras en la fase de análisis se ha estudiado si se ha introducido algún tipo de sesgo, comparando respondedores y no respondedores en algunas variables de las que se puedan disponer de información (sexo, edad, área de residencia).

Sesgo de clasificación: si la recogida de información estuviera influenciada por el hecho de alguien sea caso o control, se produciría una distorsión en las estimaciones, exagerando diferencias en la exposición, existan o no en la realidad. Para evitar este sesgo, la recogida de información se hizo de la manera más sistemática posible, sin explicarle al sujeto cual es la hipótesis principal del estudio.

Efectos indeseables del emparejamiento: los factores de exposición del cáncer vesical no son del todo bien conocidos. Debido a ello, no se pueden excluir la presencia de factores de confusión desconocidos en este momento. Para intentar evitar el efecto de los factores de confusión, se ha realizado un emparejamiento sexo y área de residencia, y teniendo en cuenta la edad. Este emparejamiento intenta igualar al grupo de casos y controles en relación a terceras variables no conocidas.



1. CARACTERÍSTICAS DE LOS SUJETOS INCLUIDOS EN EL ESTUDIO.

Para la selección de casos incluidos en este estudio se contactó con 142 pacientes con cáncer vesical (CaV) recién diagnosticado (casos incidentes), pero, dado que 2 de ellos (1,4%) rechazaron la participación en el trabajo, por el expreso deseo de no realizarse extracción de sangre alguna, el número final de casos quedó establecido en 140.

En relación a los sujetos que forman el grupo control, la Tabla 12 recoge de manera detallada la de información a este respecto.

Tabla 12. Distribución de servicios y motivos de ingreso de los CONTROLES (n=206)

Servicio hospitalario	n	%
Servicio Médico	96	46,6
Servicio Quirúrgico	53	25,7
Servicio Médico-quirúrgico	57	27,7
Motivo de ingreso		
Cardiovasculares	50	24,3
Infecciosas	41	19,9
Litiasis	54	26,2
Traumatismos	40	19,4

Como se mencionó en la metodología, se trató que los controles hospitalarios fueran similares a los casos en lo referente a área de residencia, sexo y edad.

Los controles del estudio se seleccionaron de un listado predefinido de diagnósticos de enfermedades no asociadas, en principio, ni a factores de riesgo conocidos de CaV ni a exposición a contaminantes ambientales.

Como se observa en la Tabla 12, la mayoría de controles provenían de

servicios con actividad médica (46,6%). El origen de los controles de este estudio es similar al encontrado en otros estudios caso-control de base hospitalaria. Así, en el estudio de casos y controles hospitalarios realizado por Michaudy cols, el 30 % de sus controles provenían de cirugía traumatológica (Michaud y cols. 2007), porcentaje similar al de nuestro estudio. Aunque el 26% de nuestros controles procedían del propio servicio de Urología, el motivo de su ingreso no estaba relacionado con el CaV, sino con litiasis de cualquier punto del tracto urinario superior. La litiasis no ha sido asociada con CaV urotelial (Clayson y cols. 1995), lo que en principio valida la inclusión de este tipo de pacientes como controles (<http://www.uptodate.com/contents/epidemiology-and-etiology-of-urothelial-transitional-cell-carcinoma-of-the-bladder>).

El hecho de que nuestros controles procedan de un entorno variado de pacientes hospitalarios y sean similares a los utilizados en otros estudios, nos permite suponer que no existe sesgo de selección.

Tal y como puede observarse en la Tabla 13, en cuanto a la distribución por sexos, el porcentaje de mujeres y de hombres fue similar en ambos grupos (casos y controles). Se ha de resaltar que en el grupo de pacientes afectados de CaV (casos), la mayoría de los pacientes (86%) de este estudio eran hombres (Tabla 13). Ello coincide con lo encontrado en la literatura (Murta-Nascimento y cols. 2007a) y con lo reportado en los registros de cáncer. El CaV es de 2,5 a 10 veces más frecuente en los hombres que en las mujeres, lo cual coincide con los resultados obtenidos en este estudio (ratio 6:1 hombre-mujer). Esto supone que, para los hombres de los países occidentales, el CaV sea el cuarto cáncer más frecuente, siendo responsable del 2,9% de todas las muertes por cáncer entre los hombres y del 1,5% entre las mujeres. Las divergencias de frecuencia entre géneros se han atribuido a la diferente exposición a los factores de riesgo. De hecho, aunque es más frecuente en el sexo masculino, se observa un aumento claro de la incidencia en el sexo femenino, sobre todo a partir de la década de los 50, coincidiendo con la implantación entre las mujeres del hábito del tabaco.

De forma similar tampoco existían diferencias entre ambos grupos en lo referente a la edad (Tabla 13). En cualquier caso, se ha de resaltar que la edad media de los casos de este estudio fue de 67 años, siendo de 66,1 años en hombres y ligeramente superior en mujeres (70,6 años), aunque sin diferencias significativas ($p = 0,122$). Este dato coincide con lo publicado por otros autores. Así, en el estudio de Murta-Nascimento y cols., la edad media de presentación fue de 69 años para los hombres y de 71 años para las mujeres, muy similar a las edades mostradas por los pacientes incluidos en nuestro estudio (Murta-Nascimento y cols. 2007a).

En lo referente al lugar de residencia, tampoco existían diferencias entre los casos y los controles de nuestra muestra (Tabla 13). La mayoría de los pacientes residían en Gran Canaria (95,7%), lo cual coincide con la casuística propia del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Se ha de resaltar el hecho de que casi tres de cada cuatro pacientes de nuestro estudio provenían de un ambiente urbano (población >100.000 habitantes). El porcentaje de población urbana en nuestro estudio es superior al porcentaje referido para la población general, según datos del ISTAC (Instituto Canario de Estadística; <http://www2.gobiernodecanarias.org/istac/operacion.jsp?codigo=020.010.010>). La población de referencia para el Hospital Universitario Insular de Gran Canaria, aproximada a fecha de Enero del 2010, era de 387.814 habitantes, de los cuales correspondía el 41% a población urbana, el 56% a semirrural y un 2,5% a población rural. Sin embargo, más del 72% de los casos incluidos en este estudio procedían de un ambiente urbano. Esta discrepancia puede sugerir algún tipo de influencia de la variable “entorno urbano” sobre el CaV, bien mediante su influencia en el mayor diagnóstico de la enfermedad, o bien en una mayor incidencia. A este respecto, un reciente estudio reporta una fuerte asociación entre el CaV y la densidad de población, hecho que podría venir explicado, al menos en parte, por los altos niveles de polución del aire debida al tráfico (Colli y cols. 2011).

Tampoco se observaron, en nuestro estudio, diferencias significativas entre casos y controles en cuanto al tiempo que ha permanecido cada sujeto en ese lugar de residencia. El tiempo de permanencia en un ambiente rural o urbano puede influir

en la carga de contaminantes de un sujeto, como ya se ha descrito en Canarias, por estudios previos de nuestro grupo (Zumbado y cols. 2005; Luzardo y cols. 2006; Henriquez-Hernandez y cols. 2011a) y, por ende, en la incidencia y/o prevalencia de patología tumoral.

El hecho de que no se observen diferencias significativas entre casos y controles en cuanto a edad, sexo y lugar de residencia, indica que la selección de controles se hizo correctamente y nos permite pensar que éstos son similares a los casos en lo que a esas posibles variables de confusión se refiere.

Tabla 13. Distribución de variables sociodemográficas

Variable	Controles (n = 206)	Casos (n = 140)	p
Sexo hombre: n (%)	168 (81,6)	120 (85,7)	NS
Edad en años: media ± DT	65,1 ± 16,6	66,7 ± 12,1	NS
Residencia en Gran Canaria: n (%)	202 (98,1)	133 (95,7)	NS
Entorno de residencia: n (%)			
Rural (<10.000 hab.)	7 (3,4)	4 (2,9)	NS
Semirural (10-100.000 hab.)	38 (18,4)	34 (24,3)	
Urbano (>100.000 hab.)	161 (78,2)	102 (72,9)	
Residencia >5 años	178 (88,1)	119 (90,2)	NS

Abreviaturas: NS, no significativo; DT, desviación típica.

2. VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS Y CÁNCER DE VEJIGA

Como es bien conocido, determinadas variables antropométricas, tales como el peso o el índice de masa corporal (IMC), parecen ser importantes factores de riesgo de desarrollo de cáncer. Por ello decidimos contemplar este tipo de variables en el presente proyecto de Tesis Doctoral.

Considerando a los individuos sin distinción de sexos, observamos que los casos registraban una media de peso y estatura significativamente mayor que los controles (Tabla 14). Esta diferencia significativa se mantenía entre los hombres para el caso de la talla y permanecía al borde de la significación para el peso. Entre las mujeres no detectamos diferencias significativas en ningún caso. No obstante, tampoco detectamos diferencias en ningún caso respecto a la variable IMC.

Pocos estudios han estudiado la relación entre las diferentes variables antropométricas (altura, peso e IMC) y el riesgo de cáncer de vejiga.

Respecto al IMC, en nuestro estudio no se observaron diferencias estadísticamente significativas ni en hombres ni en mujeres entre casos y controles. Estos resultados coinciden con los descritos por otros autores en estudios prospectivos realizados en población norteamericana (Holick y cols. 2007) y sueca (Larsson y cols. 2008) que tampoco encontraron asociación entre el IMC y el riesgo de CaV. Aunque parece claro que el IMC sí supone un factor de riesgo para cierto tipo de tumores, como por ejemplo el de mama, no parece ser un factor determinante en la patología tumoral vesical.

En relación a la potencial relación entre la talla y el riesgo de CaV las evidencias encontradas en la literatura son poco concluyentes y contradictorias. Así, mientras el estudio de cohortes desarrollado en población norteamericana por Holick y cols. sugería una asociación inversa significativa, sólo en hombres, entre la altura y el riesgo de cáncer de vejiga en sujetos que medían $> 1,80$ m (RR 0,69 con IC 95%, 0,50-0,95) al compararlos con aquellos que medían $\leq 1,50$ m (Holick y cols. 2007), la

altura no se asoció con el cáncer de vejiga en los estudios de casos y controles desarrollados en población italiana (La Vecchia y cols. 1990b) ni en estudios prospectivos desarrollados en nuestro país vejiga tras de ajustar por edad, tabaquismo activo y actividad profesional (Leon y cols. 1995). Sin embargo, tal y como se puede observar en la Tabla 14, en nuestro estudio hemos encontrado que los hombres con CaV son, de media, 3 centímetros más altos que los hombres sin esta patología. Estos resultados coinciden con recientes revisiones que apuntan la posibilidad de que la mayor altura pueda ser un factor de riesgo de diferentes tipos de patologías tumorales (cáncer colorrectal, de próstata, mama, sistema nervioso central, piel, endometrio, tiroides y tumores hematopoyéticos) (Batty y cols. 2009).

Tabla 14. Distribución de variables antropométricas

Grupo	Variable	Casos	Controles	p
TODOS		N = 140	N = 206	
	Peso Actual Kg (DT)	78,6 (11,5)	75,9 (12,1)	0,036
	Talla (metros) (DT)	1,73 (0,1)	1,70 (0,1)	<0,001
	IMC (Kg/m ²)	26,4 (3,6)	26,3 (3,3)	NS
HOMBRES		N = 120	N = 168	
	Peso Actual Kg (DT)	80,2 (10,9)	77,7 (12,1)	0,074
	Talla (metros) (DT)	1,74 (0,05)	1,71 (0,08)	<0,001
	IMC (Kg/m ²)	26,4 (3,6)	26,5 (3,1)	NS
MUJERES		N = 20	N = 38	
	Peso Actual Kg (DT)	69,5 (11,1)	68,1 (8,8)	NS
	Talla (metros) (DT)	1,63 (0,05)	1,63 (0,06)	NS
	IMC (Kg/m ²)	25,1 (3,7)	25,6 (3,8)	NS

Abreviaturas: DT, desviación típica; IMC, índice de masa corporal; NS, no significativo

La potencial asociación positiva entre altura y riesgo de cáncer que encuentran estos estudios podría relacionarse con varios factores. Por ejemplo, una mayor ingesta energética en la infancia, o bien que la altura sea un “marcador” de

exposición temprana a otros factores relevantes (dieta, estrés, enfermedades crónicas infantiles, etc.) que pudieran afectar al ulterior desarrollo de un cáncer. Además la altura puede reflejar factores hereditarios, estilos de vida (la dieta y la ingesta calórica como ya se ha dicho) o puede ser consecuencia de mayores niveles de mediadores de hormonas anabólicas como la hormona del crecimiento (GH). En este sentido se ha de destacar el hecho de que los principales mediadores de los efectos anabólicos de la GH, esto es, los factores de crecimiento similares a la insulina (*Insulin-like Growth Factors*; IGF) han sido relacionados con el desarrollo de ciertos tipos de tumores debido a su efecto mitogénico y antiapoptótico sobre diversos tejidos, incluido el vesical (Probst-Hensch y cols. 2003; Zhao y cols. 2003). Además de todo lo expuesto, la exposición a contaminantes químicos del tipo de los plaguicidas organoclorados (POCs) o bifenilos policlorados (PCBs) puede modificar los niveles séricos de IGF (Boada y cols. 2007; Zumbado y cols. 2010). Por ello, en este estudio decidimos explorar los niveles de IGF en los sujetos incluidos en nuestro estudio, tanto en los afectos de CaV (casos) como en los controles. En el siguiente apartado de esta Tesis Doctoral se presentan y discuten los resultados obtenidos en relación a los niveles de IGF y cáncer de vejiga.

3. FACTORES DE CRECIMIENTO SIMILARES A LA INSULINA (IGF) Y CÁNCER DE VEJIGA.

Como quedó debidamente explicado en el capítulo de Material y Métodos de esta Tesis, en este trabajo se evaluaron los niveles séricos del mediador de la acción de la GH más relevante, el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (*Insulin-like Growth factor-1*; IGF-I). Asimismo se evaluaron los niveles séricos de la principal proteína transportadora de IGF, la proteína transportadora de factores de crecimiento similares a la insulina tipo 3 (*Insulin-like Growth factor binding protein-3*; IGFBP-3).

En los sujetos incluidos en nuestro estudio, los valores de IGF-I siguieron una distribución normal tanto entre los casos como entre los controles. Los valores de IGF-I se cuantificaron en 137 controles y 114 casos. Se ha de reseñar que los niveles séricos de IGF-I están influenciados por el sexo, la edad, el IMC y otros factores externos como la dieta y diferentes hábitos de vida (Baibas y cols. 2003) y que, además, muestran un dimorfismo sexual, detectándose mayores niveles en los hombres que en las mujeres especialmente en las edades más avanzadas (Landin-Wilhelmsen y cols. 1994). En cualquier caso, el papel del género en este sentido no es del todo conocido (Brabant y cols. 2007). En nuestro estudio no se observaron diferencias significativas respecto a los niveles séricos de IGF-I entre hombres y mujeres, tomando la serie completa sin tener en cuenta que los pacientes pertenecieran al grupo de casos o de controles, aunque los hombres presentaban niveles mayores de IGF-I (47,6 vs. 44,5 ng/ml para hombres y mujeres, respectivamente). No obstante, al segmentar a la población por edad, observamos que en el segmento de edad comprendido entre los 51 y 70 años, los hombres presentaban niveles significativamente mayores de IGF-I que las mujeres (103,8 vs. 83,8 ng/ml respectivamente, $p = 0,042$), lo cual coincide con lo publicado por otros autores (Landin-Wilhelmsen y cols. 1994).

Existe una clara asociación inversa entre la edad y los niveles de IGF-I en adultos (Holmes y cols. 2002; Baibas y cols. 2003). El papel de la edad a este respecto sí es claro. En nuestro caso, observamos claramente una disminución de

los niveles de IGF-I en suero a medida que la edad aumentaba, estando nuestros resultados en concordancia con lo reportado por otros. Así, los niveles de IGF-I descendían significativamente conforme aumentaba la edad (122,9, 101,1 y 90,0 ng/ml para los segmentos de edad <51, 51-70 y >71 años respectivamente, $p = 0,01$).

No se observaron diferencias en los niveles séricos de IGF-I en relación al IMC, el hábito tabáquico, el hábitat o la práctica de profesiones de riesgo. Sin embargo, sí fue evidente que los individuos que declaraban hacer uso de pesticidas presentaban niveles significativamente inferiores de IGF-I en comparación con los individuos que no usaban este tipo de sustancias (89,2 vs. 104,0 ng/ml, $p = 0,047$). Este resultado coincide con lo reportado en la literatura, en el sentido que la exposición a pesticidas organoclorados se asocia a menores niveles de IGF en niños y adultos (Boada y cols. 2007; Zumbado y cols. 2010).

Se ha descrito una asociación inversa entre los valores de IGF-I y el IMC (Gomez y cols. 2003; Succurro y cols. 2010), aunque recientes estudios sugieren que esta asociación no es lineal: los individuos con IMC <20 y >35 kg/m² se asociaban a niveles más bajos de IGF-I en comparación con los individuos de IMC entre 20 y 35 (Schneider y cols. 2006; Crowe y cols. 2011). La población del archipiélago canario presenta unos altos índices de sobrepeso y obesidad (Serra Majem y cols. 2000); y en la población incluida en el presente estudio, el porcentaje de individuos con sobrepeso y obesidad fue también elevado (63,3% del total: 64% en los controles y 62,1% entre los casos). No obstante, no detectamos diferencias en la distribución de IGF-I en función del IMC en nuestra muestra, posiblemente debido a la influencia de otros factores dietéticos y/o medioambientales (Boada y cols. 2007; Zumbado y cols. 2010; Henríquez-Hernández y cols. 2011a). En este sentido es bien conocido que la dieta juega un claro papel en la regulación de los niveles de IGF-I (Baibas y cols. 2003), disminuyendo claramente los niveles circulantes de IGF-I la restricción dietética (Fontana y cols. 2008). La dieta en los grupos de población de mayor edad (como los incluidos en nuestro estudio) ha sido sujeto de análisis, aceptándose de manera general la existencia de unos mayores

niveles de malnutrición en ancianos (Miquel 2001). Dada la influencia que la dieta ejerce sobre los niveles de IGF-I, la ausencia de diferencias en valores séricos de IGF-I en función del IMC en los sujetos estudiados podrían deberse, al menos parcialmente, a factores dietéticos sobreañadidos.

Tal y como se ha dicho, el papel de IGF-I como factor de riesgo en cáncer de vejiga no está demostrado, pero dado que, tras los resultados obtenidos en el análisis de las variables antropométricas era de interés conocer el potencial papel jugado por el IGF-I en el desarrollo de CaV, se estudiaron los niveles de IGF-I en los casos y controles, segmentando a la población en diferentes grupos a tenor de su género, edad, IMC y uso de pesticidas (Tabla 15).

Nuestros resultados demostraron que los niveles de IGF-I no variaban entre casos y controles cuando se tomaban a ambos grupos sin segmentar ($p = 0,496$), pero que cuando se segmentaban por estas variables eran los controles los que presentaban niveles mayores de IGF-I. Así, observamos que los pacientes de cáncer vesical menores de 51 años presentaban niveles séricos de IGF-I significativamente menores que los controles en ese mismo segmento de edad (103,6 vs. 129,6, $p = 0,045$). Al segmentar por IMC, observamos igualmente que los individuos con cáncer vesical y con IMC por encima de 25 kg/m^2 tenían unos niveles séricos de IGF-I menores a los que presentaban los controles en ese mismo rango de IMC. Lo mismo ocurría en el rango de casos y controles con $\text{IMC} < 25$, pero el escaso tamaño de ese subgrupo nos obliga a no considerar ese resultado. En cualquier caso, los resultados significativos obtenidos en estos análisis deben tomarse con cautela, debido a los reducidos tamaños muestrales de los subgrupos analizados.

Además se realizaron análisis univariante y multivariante (ajustando por IMC, edad e IGFBP-3 y segmentando por sexo) no encontrando ningún resultado estadísticamente significativo, lo que nos permite plantear que, en esta población, los niveles de IGF-I puedan considerarse como factor de riesgo de CaV. En este sentido, otros autores tampoco han encontrado diferencias en niveles de IGF-I

Tabla 15. Distribución de los niveles séricos de IGF-I (ng/ml) entre casos y controles

Grupo	N (Co/Ca)	Controles	Casos	p
Serie completa (media ± DT)	123/114	102, 9 ± 50,5	98,9 ± 42,6	0,496
Sexo				
Hombres	11/7	101,3 ± 50,5	99,2 ± 44,2	0,748
Mujeres	19/16	110,6 ± 50,7	97,4 ± 32, 4	0,362
Edad (años)				
<51	210/11	129,6 ± 39,6	103,6 ± 33,1	0,045
51-70	1	93,2 ± 50,1	109,0 ± 47,0	0,074
>71	12/41	97,2 ± 52,4	82,4 ± 32,2	0,125
IMC (Kg/m²)				
<20	1	135,0 ± 9,9	56,8 ± 12,2	0,020
20-24,99	18/41	94,3 ± 47,6	103,1 ± 43,9	0,368
25-29,99	14/29	102,9 ± 50,9	99,7 ± 45,2	0,710
>25	17/13	120,9 ± 54,7	88,4 ± 21,3	0,050
Uso de pesticidas				
Sí	22/27	99,2 ± 36,7	81,0 ± 28,6	0,058
No	128/87	103,7 ± 52,8	104,4 ± 44,8	0,915

Abreviaturas: Co/Ca, número de pacientes según Controles y Casos; DT, desviación típica; IMC, índice de masa corporal.

entre grupos en estudios de casos y controles, concluyendo que los niveles de IGF-I no eran un factor de riesgo para el CaV (Serel y cols. 2003). Lo mismo ha sido reportado por otros autores (Shariat y cols. 2003). Sin embargo, Zhao y cols observaron en 154 pacientes con cáncer de vejiga, que sus niveles séricos de IGF-I era significativamente mayores que los registrados en 154 individuos control (175,8 vs. 153,2 ng./ml., $p < 0,01$), concluyendo que IGF-I podría ser un factor de riesgo para el cáncer de vejiga (Zhao y cols. 2003). De nuevo, ha de tenerse en cuenta que los factores dietéticos y el estilo de vida influyen claramente sobre los niveles de IGF-I (consumo de alcohol, de grasas, así como otras enfermedades asociadas) (Kirschner y cols. 1986; Wu y cols. 1988; Juul y cols. 1994; Goodman-Gruen y cols.

1997), lo que puede condicionar los resultados obtenidos. En este sentido, los cambios dietéticos y los tratamientos médicos a los que puedan estar sometidos los sujetos afectos de CaV pueden influenciar los niveles de IGF-I.

A día de hoy, los niveles de expresión del receptor para IGF-I (IGF-1R) parecen ser un mejor factor a la hora de valorar no solo el riesgo sino también el pronóstico y la respuesta a los tratamientos, no sólo en el caso del cáncer de vejiga, sino también en otras patologías tumorales malignas (Li y cols. 1998; Lloret y cols. 2007; Lara y cols. 2011). Sin embargo, analizar los niveles de expresión de este receptor están fuera del objetivo de esta Tesis, aunque pudiera ser un interesante tema de investigación en un futuro.

4.- ESTILO DE VIDA Y CÁNCER DE VEJIGA: PROFESIÓN.

Como ya se ha dicho a lo largo de este trabajo, la población objeto de estudio estaba compuesta por 206 controles y 140 casos incidentes de CaV. Respecto a la actividad profesional, el 34% de los sujetos sanos se había dedicado al menos a una profesión que se ha asociado a niveles elevados de exposición a contaminantes. La exposición más frecuente en ese grupo estaba referida a la agricultura (13,6%) seguida por la profesión de conductor/chófer (9,7%). Solamente un 2,9% de los sujetos sanos ha trabajado en la industria química, lo cual es coherente con la distribución de los sectores productivos en las Islas Canarias.

(<http://www2.gobiernodecanarias.org/istac/jaxiweb/menu.do?path=/05011/E30308A/P0002&file=pcaxis&type=pcaxis&L=0>).

En nuestra muestra, al comparar casos y controles observamos diferencias estadísticamente significativas respecto a la distribución por profesiones de riesgo. Así, como se muestra en la Tabla 16, el 47.1% de los casos ejercía una profesión de riesgo en comparación con el 34% de la población control ($p = 0,018$). Al analizar cada profesión de riesgo por separado, se observó que, excepto el turismo, el resto de las profesiones consideradas “de riesgo” son más frecuentes entre los casos, destacando particularmente la profesión de “chófer” que es casi 2 veces más frecuente entre los casos que entre los controles ($p = 0,034$) y la de “pintor” (frecuencia casi 3 veces superior y al borde de la significación estadística, $p = 0,056$). Más concretamente, identificamos diferencias significativas de distribución respecto a las profesiones de “chófer” y “pintor”, lo que sugiere que ambas podrían ser relevantes en el origen y/o desarrollo del CaV. Se ha de resaltar que no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos respecto a la condición de agricultor ni respecto a la frecuencia de uso de plaguicidas (Tabla 16).

En este aspecto, es bien conocido el hecho de que existen múltiples actividades profesionales que se han vinculado a mayor riesgo de CaV. Si bien en muchos casos tal evidencia no está claramente establecida (Baena y cols. 2006).

Tabla 16. Distribución de variables sociodemográficas			
Variable	Controles	Casos	
	(n = 206)	(n = 140)	p
Profesión de riesgo: %	34,0	47,1	0,018
Profesión: %			
Agricultura	13,6	18,6	0,229
Industria Química	2,9	3,6	0,762
Chófer	9,7	17,9	0,034
Pintor	1,5	5,7	0,056
Turismo	6,8	6,4	0,9
Uso de plaguicidas: %	16,0	23,6	0,094
Frecuencia uso plaguicidas:			
%			
Esporádico (<1/mes)	10,7	15,3	0,789
Frecuente (>1/mes)	5,3	8,2	

Las profesiones en las que mayor evidencia parece existir son: pintores, maquinistas, trabajadores del aluminio, industria textil, caucho, peluqueros y trabajadores de tintorerías (IARC 1987).

En este sentido, en nuestro estudio el 5,7% de los casos manifestó ser pintor de profesión frente al 1,5% de los controles ($p = 0,056$). Este resultado coincide con lo publicado en la literatura. Así, un meta-análisis reciente con más de 2.900 pacientes ha asociado claramente la profesión de pintor, y la duración de ejercicio de esa profesión, como factor de riesgo de CaV (Guha y cols. 2010). En el presente estudio se observa una clara tendencia en concordancia con esos resultados, aunque las diferencias no son significativas debido probablemente al limitado tamaño de nuestra muestra. Otros estudios han analizado esta exposición encontrando una asociación positiva entre el uso de tintes o pinturas y el riesgo de

CaV, atribuyendo esta asociación a las aminas aromáticas que forman parte de los mismos (Najem y cols. 1982; Gonzalez y cols. 1989; Kunze y cols. 1992). De forma similar se ha descrito un mayor riesgo de CaV en sujetos que se dedicaban al trabajo de maquinista en industrias de pinturas (Kogevinas y cols. 2003); este incremento del riesgo podría atribuirse a una mayor exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs).

Respecto a los conductores, en nuestro estudio, la prevalencia de esta profesión entre los casos de CaV fue del 18% frente al casi 10% de los controles, siendo estas diferencias estadísticamente significativa ($p = 0,034$). Son múltiples los estudios que reportan una asociación positiva entre esa profesión y el CaV (Reulen y cols. 2008; Manju y cols. 2009). La observación de una asociación estadística entre exposición y enfermedad no significa que la asociación sea causal. Así, aunque numerosos investigadores han interpretado la asociación entre exposición a los gases de escape de los motores diesel y el cáncer de vejiga como causal, otros afirman que los trabajadores expuestos a estos gases (principalmente camioneros y taxistas), fuman con más frecuencia que las personas no expuestas. Según esto, la relación observada estaría “confundida” por un factor de riesgo bien conocido, como es el tabaquismo (<http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo1/28.pdf>).

A pesar de que numerosos estudios han tratado de evaluar la potencial relación entre la dedicación a la agricultura y el riesgo de CaV, tal relación no está suficientemente establecida, encontrando tanto estudios que indican que tal actividad profesional puede disminuir el riesgo como estudios que concluyen que la profesión de agricultor debe ser considerada como un factor de riesgo de CaV (Tabla 17). En cualquier caso, las peculiaridades de la agricultura desarrollada en las Islas Canarias con un elevado número de hectáreas dedicadas a agricultura intensiva (bajo plástico) que requiere un uso masivo de productos químicos (plaguicidas), nos obligó a incluir en nuestro estudio un análisis pormenorizado sobre la potencial relación existente entre la profesión de agricultor y la exposición a plaguicidas y el riesgo de CaV. En nuestro estudio, no hubo asociación alguna entre

CaV y la profesión de “agricultor”, ni entre tal patología y la “exposición a plaguicidas” (Tabla 16. Se ha de resaltar que a diferencia de la mayoría de los estudios publicados, en que se valoraba de forma indirecta la exposición de los agricultores a plaguicidas u otros compuestos mediante encuestas, en nuestro estudio la exposición se evaluó de forma directa ya que se cuantificaron los niveles de los potenciales plaguicidas manipulados por agricultores en muestras biológicas de los mismos (sangre, orina), En cualquier caso, sólo se evaluó la exposición a un grupo de plaguicidas (compuestos organoclorados) y no al conjunto de potenciales plaguicidas empleados por los agricultores. Por ello, es posible que una medición más exhaustiva de la exposición a plaguicidas (incluyendo otros grupos de amplio uso como organofosforados, carbamatos o piretrinas), pudiera variar significativamente estos resultados.

Tal y como se manifestó anteriormente, también se incluyó en este estudio la variable “exposición a pesticidas”. En nuestro estudio, esta exposición se valoró tanto si la exposición era “laboral” como si ha sido una exposición “no laboral” (de tipo doméstico). El 23,6% de los casos habían utilizado alguna vez pesticidas frente al 16% de los controles ($p = 0,094$) siendo más frecuente entre los casos tanto la utilización esporádica (<1/mes) como la frecuente (>1/mes), sin alcanzar en ningún caso la significación estadística. Lo genérico de la variable, donde en principio no se ha considerado el tipo de plaguicida ni las posibles mezclas de los mismos, hacen lógico que aparezca esta variable como no significativa.

Por la relevancia del sector turístico en Canarias, se ha incluido en este estudio la actividad en dicho sector productivo como un potencial factor de riesgo para el cáncer de vejiga. Esta actividad profesional ya ha sido relacionada con esta patología tumoral en otros estudios, puesto que en ella se puede producir manipulación de productos químicos de uso doméstico (potencialmente cancerígenos como plaguicidas y/o disolventes y pinturas). En este sentido, la bibliografía referente a la asociación entre los profesionales hoteleros y el CaV es escasa y poco concluyente. En esta profesión se incluye a personal de mantenimiento, jardineros y otros puestos relacionados con los hoteles.

Tabla 17. Estudios epidemiológicos que han analizado la relación entre CaV y exposición laboral (agricultura)

AUTOR, AÑO	LUGAR	ASOCIACIÓN	Observaciones
Aumenta el riesgo			
(Kabat y cols. 1986)	EEUU	OR: 9,7*	NO FUMADORES
(la Vecchia y cols. 1990a)	Italia	OR: 4,1**	HERBICIDAS
(Burmeister 1981)	EEUU	SMR: 1,14**	
(Viel y cols. 1995)	Italia	OR: 1,14 (1,10-1,24)*	
Disminuye el riesgo			
(Lundsberg y cols. 1997)	EEUU	OR: 0,88 (0,56-0,90)*	
(Vagero y cols. 1986)	Suiza	SIR: 0,64 (0,59-0,69)*	
(Stubbs y cols. 1984)	EEUU	PCMR: 0,60*	
(Forastiere y cols. 1993)	Italia	OR: 0,58 (0,38-0,90)*	FERTILIZANTES
(Wiklund y cols. 1986)	Suecia	OR: 0,49 (0,23-0,78)*	
(Rafnsson y cols. 1988)	Islandia	NR	
(Spinelli y cols. 1990)	UK	OR: 1,7 (1,1-2,6)	

Abreviaturas: OR: Odds ratio; SIR: Ratio de Incidencia Estandarizada; PCMR: Ratio de Mortalidad proporcional por cáncer; SMR: Ratio de Mortalidad Estandarizada; NR, no reportado. * p<0,05 **p<0,01.

Posiblemente, la modificación del riesgo esté relacionada con el uso de pinturas, manipulación de plásticos o disolventes y otras sustancias químicas muy habituales en esta profesión. En diferentes estudios casos-control, uno de ellos español (Gonzalez y cols. 1989), los varones trabajadores en hoteles y establecimientos hoteleros durante más de 10 años tenían un riesgo más elevado de CaV aunque no llegaba a ser significativo (OR 1,28 con IC 95% 0,75-1,28). Esta asociación, sin embargo, no fue observada en nuestro estudio, donde la prevalencia de trabajo en turismo es más frecuente en controles que en casos (Tabla 13). La amplitud de connotaciones que tiene la variable hace que sea difícil establecer una asociación significativa con el CaV u otras patologías.

Existen otras exposiciones profesionales que se han asociado con mayor riesgo de CaV pero que no han sido consideradas en este estudio por su escasa implantación en la población canaria. Así por ejemplo la industria del curtido y el acabado del cuero (donde se emplean agentes potencialmente cancerígenos tales como las ya prohibidas sales de cromo hexavalentes, tintes de anilina y azoicos, taninos vegetales, disolventes orgánicos como formaldehído y clorofenoles). En este sentido, estudios desarrollados entre trabajadores de la industria de curtidos en China reflejaron un exceso significativo en el riesgo CaV entre los curtidores que estuvieron expuestos a colorantes a base de bencidina; riesgo que aumentó con la duración de la exposición (Chen 1990). Asimismo se ha asociado la exposición a tintes o disolventes utilizados en el proceso de acabado textil con el CaV y de testículos (Guarcello y cols. 1987).

De todo lo expuesto se puede concluir que de la exposición profesional a sustancias tóxicas (tanto en el pasado como exposiciones recientes) podría ser el factor determinante que explique las posibles asociaciones entre profesión y riesgo de CaV. Sin embargo, pocos carcinógenos han podido ser relacionados con un incremento en el riesgo de CaV. De entre los compuestos químicos que muestran una asociación relevante con el cáncer de vejiga destacan las aminas aromáticas tales como la beta-naftilamina y bencidina (IARC 1993) presentes en tintes y pinturas, el aluminio y sus compuestos, el alquitrán y breas de alquitrán y la magenta. También se han considerado como compuestos carcinógenos para la vejiga, aunque con menor evidencia, los PAHs, especialmente el benzopireno (Clavel y cols. 1994), 4-clor-orto-toluidina, la hulla, las cloroanilinas, especialmente 4,4'-Metileno bis(2-cloroanilina) y los contaminantes derivados de motores diesel (Boffetta y cols. 2001; Kogevinas y cols. 2003). Por todo ello las profesiones que a día de hoy, en virtud de la bibliografía disponible, podrían considerarse de riesgo para cáncer de vejiga son pintores, trabajadores de la industria del caucho, operarios de centrales de carbón gasificado, trabajadores de hornos de coque, barberos, peluqueros y conductores (http://www.istas.ccoo.es/descargas/INFORME_CANCER.pdf).

5. ESTILO DE VIDA Y CÁNCER DE VEJIGA: HÁBITO TABÁQUICO.

El tabaco es un factor de riesgo asociado a distintos tipos de tumores, y perfectamente establecido en el cáncer de vejiga. En nuestro estudio el hábito tabáquico fue recogido como variable y analizado su distribución entre los casos y los controles.

Tabla 18. Distribución de variables relacionadas con el hábito tabáquico			
Variable	Controles	Casos	p*
Tabaquismo (%)			
No fumadores	35,0	15,7	
Exfumadores	12,1	38,6	<0,001
Fumadores	52,9	45,7	
Nº de cigarrillos/día:			
Mediana (p25-p75)	15 (10-20)	10 (5-20)	0,404
Años que dejó de fumar:			
Mediana (p25-p75)	5 (2-11)	8 (5-13)	0,381
Edad de inicio tabaquismo:			
Media (DT)	18,2 (2,6)	16,8 (3,6)	0,006
Años que lleva fumando: Media (DT)	45,7 (12,5)	48,3 (13,0)	0,116
Paquetes-año: Mediana (p25-p75)	30 (42,5-60,8)	26 (9-48)	0,377
Paquetes-mes (%)			
0	35,0	15,7	
1-20	15,0	22,1	
21-38	19,4	16,4	
39-59	11,7	7,9	<0,001
60+	4,9	9,3	
Perdidos	14,1	28,6	

Abreviaturas: p25-p75, percentiles 25 y 75 de la distribución; DT, desviación típica. * Chi cuadrado para variables categóricas y U de Mann-Whitney para comparar variables continuas no normales.

Observamos que el porcentaje de individuos no fumadores era mayor entre la población control que entre los casos (35 vs. 15,7%). Por su parte, el porcentaje de individuos que “fuman o han fumado” era significativamente mayor entre los casos (84,3 vs. 65%) ($p < 0,0001$). Además, la edad de inicio en el hábito tabáquico fue significativamente mayor entre los casos (Tabla 18; $p = 0,006$), observándose diferencias significativas en la distribución de la intensidad del hábito tabáquico, parámetro determinado como el número de cigarrillos que refieren fumar por el número de años que llevan fumando. Así, entre los casos, la intensidad del hábito tabáquico era mayor que entre los controles (Tabla 18; $p < 0,001$). No observamos diferencias significativas respecto al resto de variables recogidas y relacionadas con el hábito tabáquico.

Como ya se ha dicho en nuestro estudio, el porcentaje de fumadores (actuales o pasados) fue significativamente superior entre los casos de CaV que entre los controles. El tabaco ha sido relacionado en numerosos estudios como un potente factor de riesgo de CaV, siendo el factor de riesgo más importante para el desarrollo del cáncer urotelial en los países occidentales. Los compuestos cancerígenos del tabaco y responsables del cáncer de vejiga no han sido identificados de forma concluyente. Hay más de 60 carcinógenos presentes en el humo de cigarrillo. Los carcinógenos potenciales incluyen el 4 - aminobifenilo, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), compuestos nitrosos y aldehídos no saturados (Hoffman y cols. 1969).

Como han evidenciado numerosos estudios, los fumadores tienen un riesgo 4 veces superior de desarrollar un tumor vesical que los no fumadores, (Morrison 1984; Morrison y cols. 1984; Burch y cols. 1989; Zeegers y cols. 2002; Alberg y cols. 2007; Baris y cols. 2009). Este riesgo está directamente relacionado con: 1) el número de cigarrillos fumados, 2) la duración del hábito y 3) el grado de inhalación del humo. Se ha descrito que el 66% del CaV en hombres y el 30% en mujeres eran atribuibles a fumar cigarrillos (Brennan y cols. 2001). En nuestro estudio, el 94,2% de los hombres con CaV fuma o ha fumado, frente al 72,6% de los hombres sin CaV

($p < 0,001$). Sólo 2 casos de CaV eran fumadores ocasionales (1,4%), el resto lo eran regulares. Curiosamente, entre las mujeres de nuestro estudio la prevalencia de tabaquismo (actual o pasado) fue superior entre las mujeres control (31,6%) que entre las mujeres con CaV (25%), si bien las diferencias no eran significativas ($p = 0,853$). La falta de asociación entre fumar y padecer CaV en mujeres puede deberse al escaso número de mujeres fumadoras en esta muestra, lo que se traduce en una falta de potencia estadística. Pero también puede ser debido a que en las mujeres con CaV, el factor de riesgo puede haber sido la exposición “pasiva” al tabaco, (fundamentalmente en el ámbito familiar) dato no recogido en este estudio. En este sentido, la exposición pasiva al tabaco en mujeres parece ser un factor de riesgo para el desarrollo de CaV (Skipper y cols. 2003; Jiang y cols. 2007). De hecho, el papel del tabaco en los fumadores pasivos ha sido estudiado en población norteamericana concluyendo que de 148 personas con CaV (y 292 controles) ninguno de los sujetos incluidos había fumado nunca, lo que parece indicar que la exposición pasiva al humo del tabaco puede jugar un papel relevante (Jiang y cols. 2007). Asimismo, aunque sólo en mujeres, se ha comprobado que la convivencia con fumadores durante la infancia o durante periodos superiores a 10 años incrementan el riesgo de CaV. Así, las mujeres expuestas al humo de tabaco en la infancia presentan un riesgo 3 veces superior de sufrir CaV que las mujeres que no habían sido expuestas al tabaco en su infancia, y las mujeres que han convivido durante más de 10 años con un fumador presentan un riesgo 2 veces superior que el grupo control de desarrollar CaV (Jiang y cols. 2007).

En lo referente al hábito de fumar puros, en nuestra muestra el número de sujetos con este hábito era muy bajo: sólo 13 individuos fumaban puros. Sin embargo, la prevalencia de fumar puros entre casos era de 7,9% frente a 1% en controles ($p = 0,001$). Aunque significativo, este resultado debe ser tomado con precaución debido al bajo número de sujetos analizados. No obstante, estos resultados van en concordancia a lo publicado previamente por otros autores. Así Pitardy cols. han puesto de manifiesto que los fumadores de puros y los de pipa presentan un riesgo incrementado de CaV respecto a los no fumadores (OR 2,3 IC 95% 1,6-3,5, y OR 1,9 IC 95% 1,2-3,1, respectivamente), si bien este riesgo era de

menor magnitud que el hallado entre fumadores de cigarrillos (OR 3,5 IC 95% 2,9-4,2) (Pitard y cols. 2001). Está poco claro si otras formas de consumo del tabaco (tabaco de mascar) también están relacionados con un riesgo incrementado de cáncer de vejiga (Zeegers y cols. 2004), aunque en población española este hábito es poco frecuente.

Entre los casos de CaV de nuestro estudio, la edad de inicio en el tabaquismo era de casi un año y medio menor que la de los controles (Tabla 18), siendo esta diferencia estadísticamente significativa. La edad precoz de inicio del tabaquismo como factor de riesgo de CaV ha mostrado resultados contradictorios en diferentes estudios. Así mientras los estudios en población norteamericana de Brennan y cols. (2000) no demostraron la existencia de relación alguna entre el inicio del hábito tabáquico y el riesgo de CaV, otros estudios sí han demostrado que el inicio precoz del hábito tabáquico incrementa el riesgo de CaV respecto al inicio tardío (RR 1,33, IC 95% 1,18-1,51) (Bjerregaard y cols. 2006). Se ha de tener en cuenta que sí parece existir una correlación significativa entre el tiempo de exposición al humo de cigarrillo y el riesgo de CaV (OR = 1,96 tras 20 años fumando (IC95% 1,48-2,61), OR = 5,57 tras 60 años (IC 4,18-7,44) (Brennan y cols. 2000). Por otro lado la edad de inicio del tabaquismo entre los participantes de este último estudio fue de 17 años en los casos y de 18 años entre los controles, datos muy similares a los nuestros.

Respecto al número de cigarrillos al día, no se observaron diferencias significativas en el presente estudio. Sin embargo, cuando se combinó el número de cigarrillos que refieren fumar, por el número de años que llevan fumando (intensidad del hábito, medido mediante paquetes-año) sí se observaron diferencias significativas. En las tablas 19 y 20 se muestran los riesgos relativos de presentar CaV en función de los paquetes-año, en análisis crudo y ajustado por co-variables.

El análisis “crudo” muestra como el riesgo de desarrollar CaV aumenta a medida que aumenta la intensidad del hábito tabáquico (3,27 vs. 4,25; Tabla 19).

En la Tabla 20 se observa un análisis de regresión logística ajustado por edad

y sexo que muestra como el riesgo de presentar CaV es mayor entre los fumadores que entre los no fumadores, incluso en los que menos fuman (de 1 a 20 paquetes al

Tabla 19. Odds Ratio entre exposición a tabaco (paquete-año) y riesgo de CaV (modelo crudo)

Paquetes-año (%)	Odds ratio	(IC 95%)	p
0	1	-	
1-20	3,27	(1,64-6,52)	0,001
21-38	1,88	(0,93-3,79)	0,077
39-59	1,50	(0,64-3,54)	0,355
60+	4,25	(1,64-11,03)	0,003
Perdidos	4,51	(2,30-8,87)	<0,001

año), aumentando hasta 5 veces entre los que fuman más de 60 paquetes al año.

Tabla 20. Odds Ratio entre exposición a tabaco (paquete-año) y riesgo de CaV (modelo ajustado por edad y sexo)

Paquetes-año (%)	Odds ratio	(IC 95%)	p
0	1	-	
1-20	4,37	(2,01-9,51)	<0,001
21-38	2,38	(1,10-5,16)	0,028
39-59	1,81	(0,72-4,56)	0,207
60+	5,16	(1,86-14,29)	0,002
Perdidos	5,35	(2,54-11,24)	<0,001

En nuestro estudio el 38,6% de los casos se definen como exfumadores, frente al 12,1% de los controles ($p < 0,001$). Esta mayor prevalencia de exfumadores entre los casos de CaV puede deberse al efecto disuasorio que tiene el diagnóstico de una neoplasia sobre el paciente. En otros estudios, se ha observado que dejar de fumar

reduce el riesgo de cáncer de vejiga. En este sentido estudios recientes sugieren un evidente descenso en el riesgo de padecer CaV (mayor del 30 % entre 1 y 4 años después de abandonar el hábito, y superior al 60 % tras 25 años después del cese del hábito) (Brennan y cols. 2000). Sin embargo, incluso después de 25 años, el riesgo de CaV no llega al nivel de los que nunca han fumado (Weir y cols. 1970; Augustine y cols. 1988; Samanic y cols. 2006; Chen y cols. 2007) siendo el efecto dañino más prolongado para el CaV que para otras patologías como las enfermedades cardiovasculares o el cáncer de pulmón (Walsh 2004).

6. ESTILO DE VIDA Y CÁNCER DE VEJIGA: CONSUMO DE BEBIDAS.

Se ha asociado el CaV al consumo de determinadas bebidas, entre las que destacan el café y el té, aunque otras bebidas con y sin alcohol también se han asociado a esta patología. Por ello, se ha decidido incluir el consumo de bebidas como variable de interés en la presente Tesis Doctoral.

Como se muestra en la tabla 21, en nuestro estudio no se observaron diferencias significativas en el consumo diario total de líquidos, ni de agua, en sus diferentes formas de comercialización en Gran Canaria (con gas o sin gas añadido). Un mayor consumo total de líquidos puede diluir la concentración urinaria de carcinógenos excretados y consecuentemente reducir su tiempo de contacto con el urotelio. De hecho el estudio de casos y controles realizado por Silverman y cols. demostró una asociación protectora para la frecuencia aumentada de micción, particularmente nicturia, frente al CaV (Silverman y cols. 2008). En el mismo sentido, otros estudios de cohortes han puesto de manifiesto que el consumo diario total de agua mostraba un efecto protector frente al riesgo de cáncer de vejiga (RR 0,51; 95 % IC: 0,32 – 0,80) para un consumo diario > 2,5 litros al día comparado con un consumo diario < 1,3 litros al día (Michaud y cols. 1999a). En nuestro estudio, sin embargo, los sujetos que consumían >1,5 litros diarios de líquido eran poco numerosos y esta exposición no se asoció al riesgo de CaV.

Respecto al consumo de agua potable, en Canarias el consumo de agua del grifo no se encuentra muy extendido, menor del 50% en la población general (Estudio ENCA) (Diaz Romero y cols. 2002) siendo aún menor en las islas orientales como Gran Canaria (<25% en nuestro estudio). La cloración es el proceso más común por el que el agua potable es tratada antes de su uso por la población general. En los procesos de cloración se pueden generar trihalometanos (compuestos tales como cloroformo, fluoroformo o bromoformo) que se forman cuando el cloro, reacciona con la materia orgánica de origen natural presente en el agua captada de los ríos o pozos. El agua de mar desalinizada (principal método usado para la generación de agua potable en la isla de Gran Canaria), al no tener

residuos orgánicos, tiene menor riesgo de formación de trihalometanos. Se ha demostrado que el consumo a largo plazo de agua potable clorada estaba relacionada con un riesgo aumentado de CaV en hombres (OR 1,4 IC95% 1,1 - 1,9) y un aumento no significativo en mujeres (OR 1,2 IC95% 0,7 - 1,8) (Villanueva y cols. 2003). En España, se ha relacionado la concentración de trihalometanos en agua potable con el riesgo de CaV (Villanueva y cols. 2001). Como ya se ha reseñado, en Canarias, por su peculiaridades orográficas, el consumo de agua del grifo es poco frecuente (<30%) siendo más frecuente el consumo de agua embotellada o de agua procedente de desalinizadoras donde la cloración está muy poco presente. Además, cuando se ha medido la concentración de trihalometanos en diferentes puntos de España, en Tenerife, se encuentran los niveles más bajos de España (7µg/l) (Villanueva y cols. 2001). Por lo tanto, no es esperable que el consumo de agua del grifo se asocie en Canarias a CaV.

Numerosos trabajos han estudiado una posible asociación del café y té con el cáncer de vejiga. En nuestro estudio, el consumo de café fue significativamente mayor en los casos que en los controles, 90 mililitros/día de mediana en casos frente a 45 mililitros/día en controles ($p = 0,005$), y además, el porcentaje de sujetos que consumían café (con cafeína) era significativamente mayor entre los pacientes afectados de CaV que entre la población control (72,7 vs. 61,2, $p = 0,027$). No se observaron diferencias en el consumo de té, aunque éste era muy reducido en la muestra estudiada. No obstante, en el análisis de estas variables hay que ser cauto, puesto que el consumo de café suele ir asociado en mayor o menor medida al consumo de tabaco. Aunque la cafeína es un sustancia potencialmente mutagénica *in vitro*, no se ha podido establecer una relación definitiva entre el consumo regular de café y CaV, no encontrándose efecto dosis-respuesta y atribuyéndose el efecto a la presencia del tabaquismo como factor de confusión, ya que los consumidores de café suelen fumar más (Pelucchi y cols. 2009; Villanueva y cols. 2009). Por ello, decidimos realizar un análisis de regresión logística multivariante para determinar el riesgo de CaV entre los sujetos que consumían café, ajustando consumo de tabaco. Ajustado por el hábito tabáquico actual, los análisis de regresión muestran como el consumo de café aumenta 1,73 veces el riesgo de padecer CaV (Tabla 22).

Tabla 21. Distribución de variables relacionadas con el consumo de bebidas (ml/día)

	Controles	Casos	p
Consumo total de líquidos: N (%)			
<1,5 litros/día	183 (88,8)	121 (87,7)	0,735
>= 1,5 litros/día	23 (11,2)	17 (12,3)	
Consumo de bebidas (ml/día): media (DT)			
Refresco SIN gas	22,09 (97,3)	17,7 (88,45)	0,532
Refresco CON gas	56,9 (144,9)	54,6 (146,7)	0,064
Café CON cafeína	61,5 (57,1)	66,8 (58,8)	0,004
Café SIN cafeína	29,92 (43,09)	29,3 (43,5)	0,672
Té	8,68 (43,31)	6,9 (34,7)	0,848
Cerveza	44,06 (83,21)	41,4 (80,2)	0,560
Vino	25,91 (57,43)	26,4 58,7	0,986
Otras bebidas alcohólicas	3,47 (13,43)	3,2 (10,9)	0,143
Agua del grifo	126,14 (238,49)	128,6 (243,5)	0,143
Agua embotellada SIN gas	504,43 (457,42)	508,6 (459,8)	0,421
Agua embotellada CON gas	164,53 (313,91)	157,1 (320,8)	0,100
Consumo de bebidas (ml/día): mediana (p25-p75)			
Refresco SIN gas	0 (0-0)	0 (0-0)	0,384
Refresco CON gas	0 (0-0)	0 (0-57)	0,050
Café CON cafeína	45 (0-90)	90 (0-90)	0,005
Café SIN cafeína	0 (0-90)	0 (0-45)	0,478
Té	0 (0-0)	0 (0-0)	0,128
Cerveza	0 (0-57,1)	0 (0-47,1)	0,507
Vino	0 (0-19,3)	0 (0-19,3)	0,489
Otras bebidas alcohólicas	0 (0-0)	0 (0-0)	0,673
Agua del grifo	0 (0-200)	0 (0-151,6)	0,189
Agua embotellada SIN gas	600 (0-800)	600 (0-800)	0,567
Agua embotellada CON gas	0 (0-200)	0 (0-200)	0,114
Porcentaje de sujetos que SÍ consumen cada bebida (%)			
Refresco SIN gas	8,3	5,8	0,380
Refresco CON gas	28,6	20	0,069
Café CON cafeína	61,2	72,7	0,027
Café SIN cafeína	41,3	35,7	0,299
Té	3,4	7,1	0,114
Cerveza	37,9	41,4	0,505
Vino	28,2	32,1	0,426
Otras bebidas alcohólicas	16	18,6	0,536
Agua del grifo	20,4	25,7	0,245
Agua embotellada SIN gas	67	68,6	0,758
Agua embotellada CON gas	31,1	25,7	0,281

Tabla 22. Riesgo (OR) de presentar CaV en función del consumo de CAFÉ, ajustado por tabaquismo actual

Variable	Odds ratio	(IC 95%)	p
Consumo de café			
No	1,00	-	
Sí	1,73	1,05-2,86	0,033
Sexo			
Mujer	1,00		
Hombre	0,66	0,30-1,27	0,196
EDAD (años)	1,014	0,995-1,033	0,142
Hábito tabáquico			
No fuma	1,00		
Ex-fumador	8,51	3,99-18,1	<0,001
Fumador actual	2,27	1,17-4,42	0,015
Constante	0,108		0,003

Tal resultado se mantiene incluso si lo que consideramos es la intensidad de la exposición al tabaco (actual + pasada) mediante el nº de cajetillas-año (Tabla 23). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Zeegers y cols. en población holandesa en los que se sugirió una posible asociación positiva entre el consumo de café y el riesgo de CaV en los hombres, sobre todo para aquellos grandes consumidores (>7 tazas/día) y este efecto no era modificado sustancialmente al ajustar por el consumo de tabaco (Zeegers y cols. 2001a). Sin embargo, la asociación entre el consumo de café y un mayor riesgo de CaV no es clara. Así, mientras unos autores sugieren que el consumo de café (y no el de té) incrementa el riesgo de cáncer de tracto urinario en aproximadamente un 20% (Sala y cols. 2000; Zeegers y cols. 2001d), otros no encuentran tal asociación, como tampoco la encuentran entre el consumo de café y otros tumores (tales como mama, cavidad oral y faringe, colon y recto, endometrio, esófago, hepatocelular, leucemia, páncreas y próstata) (Yu y cols. 2011). Un reciente metaanálisis ha realizado un pool-análisis

(análisis combinado de los datos agrupados de diferentes estudios) de los datos de 23 estudios de casos y controles y 5 estudios de cohortes y ha determinado que, en los estudios de casos y controles, comparado con los no bebedores de café el riesgo de CaV ajustado por tabaquismo es de 1,07 para los bebedores de 1 taza/día; 1,15 para 2 tazas/día; 1,22 para 3 tazas/día y 1,29 para 4 tazas/día (todos $p < 0,05$). En los estudios de cohorte los resultados no fueron significativos (Zhou y cols. 2012).

Tabla 23. Riesgo (OR) de presentar CaV en función del consumo de CAFÉ, ajustado por intensidad de exposición al tabaco

Variable	Odds ratio	(IC 95%)	p
Consumo de café			
No	1,00	-	
Sí	1,67	1,02-2,75	0,041
Sexo			
Mujer	1,00		
Hombre	1,51	0,74-3,06	0,255
EDAD (año)	1,02	1,00-1,04	0,052
Paquetes-año			
0	1,00		
1-20	4,14	1,89-9,08	<0,001
21-38	2,36	1,08-5,13	0,031
39-59	1,67	0,66-4,24	0,280
>= 60	4,70	1,67-13,2	0,003

En resumen, se ha de destacar que el consumo de café se asocia en nuestro estudio a un mayor riesgo de CaV, incluso una vez tenida en cuenta la exposición al tabaco.

Finalmente, resaltar que nuestros resultados indican que la cantidad de refresco con gas consumida por los casos superaba significativamente a la de los controles (Tabla 21). A pesar de que la mediana para ambos era de 0, el percentil 75 de la distribución deja patente esa diferencia (57 vs. 0 ml/día en p75, $p = 0,05$). Sin

embargo este hallazgo es difícil de explicar y puede ser simplemente casual. En un estudio realizado en Uruguay, los refrescos con gas (soft drinks) no mostraron asociación con el riesgo de CaV, como sí lo mostraron el café o el mate (De Stefani y cols. 2007). En otro estudio realizado en EEUU, los refrescos con gas mostraron un efecto protector frente al CaV en hombres (Bruemmer y cols. 1997). Aunque los edulcorantes presentes en muchos de los refrescos con gas han sido analizados en la literatura como factor de riesgo para el desarrollo de CaV (Weihrauch y cols. 2004), su papel exacto no ha sido determinado aún. En esta Tesis doctoral se ha encontrado una asociación significativa entre la presencia de CaV y el mayor consumo de refrescos con gas, pero su implicación etiológica y la influencia de variables como el tipo de refresco (con o sin cafeína o con o sin edulcorantes, etc) deberían ser objeto de un análisis más exhaustivo.

7. EXPOSICIÓN A CONTAMINANTES AMBIENTES RELACIONADOS CON TABACO Y DIETA, Y RIESGO DE CÁNCER DE VEJIGA: HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (PAHs).

Como indicador de exposición a contaminantes químicos derivados del hábito tabáquico se llevó a cabo la determinación de los niveles de los 16 PAHs más importantes en el suero de los individuos pertenecientes a los grupos de casos y controles, con la intención de explorar la relevancia de la exposición a estos compuestos como posible factor de riesgo de CaV. Se ha reseñado que la mayor parte de los estudios realizan la determinación de la exposición a PAHs mediante la medición de alguno de sus metabolitos en orina, por las dificultades analíticas que conlleva su identificación y cuantificación en suero. Es más, los PAHs no suelen ser valorados individualmente sino de forma global, y aunque los 16 compuestos medidos en esta Tesis Doctoral son los clásicamente estudiados, no hay estudios que valoren la exposición individual a este tipo de compuestos. Del mismo modo es importante destacar que mientras que son bien conocidos los niveles de contaminación de la población canaria por otros contaminantes ambientales (como los pesticidas organoclorados o bifenilos policlorados) (Zumbado y cols. 2005; Luzardo y cols. 2006; Henríquez-Hernández y cols. 2011), nada se sabe de los niveles de contaminación por PAHs en nuestra población.

Nuestros resultados han puesto de manifiesto la existencia de un mayor número de PAHs en las muestras procedentes de los controles. Así, detectamos una media de 1,35 PAHs por individuo entre los controles (rango, 0-4) y de 1,06 (rango 0-5) entre los casos de CaV ($p = 0,007$).

El PAH detectado más frecuentemente fue el fenantreno, seguido del acenafteno (27,2 y 27,1% para controles y casos, respectivamente) y del benzo(a)antraceno (14,6 y 11,4% para controles y casos, respectivamente). Estos datos concuerdan con lo descrito por otros autores en poblaciones muy diferentes a la nuestra. Así, altos niveles de fenantreno, acenafteno y benzo(a)antraceno se han detectado igualmente en otras poblaciones, no solo en suero, sino también en cordón umbilical y leche materna (Tang y cols. 2006; Neal y cols. 2008).

De los 16 compuestos analizados, solo uno, el fenantreno, presentaba una distribución significativamente diferente entre casos y controles. Así, el 62,6% de los controles presentaba niveles detectables de este compuesto, con una mediana de concentración de 0,9 ng/ml de suero; mientras que sólo el 49,3% de los casos tenía residuos de este hidrocarburo, con una mediana de concentración de 0,5 ng/ml de suero ($p = 0,002$ y $p = 0,003$, respectivamente) (Tabla 24). El resto de PAHs analizados se distribuían de manera similar entre ambos grupos, destacando que 6 de ellos (fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, indeno(1,2,3-c,d)pireno, dibenzo(a,h)antraceno y benzo(g,h)perileno) no fueron detectados en ningún individuo, ni entre los casos ni entre los controles.

Para explorar con más detalle el papel de los PAHs en el CaV, se agruparon según la clasificación de potencial carcinogenicidad establecida para estos compuestos por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), quedando dos grupos claramente definidos: PAHs pertenecientes al grupo 2B (Naftaleno + Benzo(a)antraceno + criseno + Benzo(b)fluoranteno + Benzo(k)fluoranteno + Indeno pireno), y PAHs pertenecientes al grupo 3 (Acenafteno + Fluoreno + Fenantreno + Antraceno + Fluoranteno + Pireno + Benzo perileno). El sumatorio de PAHs (SumPAHs) correspondía a la suma de todos los compuestos cuantificados (Tabla 25).

Tabla 24. Distribución de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) entre los controles y los casos. Se incluye el porcentaje de detección de los mismos en ambos grupos

Compuesto	Controles		Casos		p*	p#
	%	Mediana (p5-p95)	%	Mediana (p5-p95)		
Naftaleno	2,4	0,0 (0,0-0,0)	2,1	0,0 (0,0-0,0)	1,000	0,807
Acenaftileno	1,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,513	0,233
Acenafteno	27,2	0,0 (0,0-1,0)	27,1	0,0 (0,0-1,6)	0,901	0,967
Fluoreno	9,7	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
Antraceno	0,5	0,0 (0,0-0,0)	0,7	0,0 (0,0-0,0)	1,000	0,811
Fenantreno	62,6	0,9 (0,0-4,0)	49,3	0,5 (0,0-3,3)	0,002	0,003
Fluoranteno	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
Pireno	8,3	0,0 (0,0-0,03)	3,6	0,0 (0,0-0,0)	0,074	0,066
Benzoantraceno	14,6	0,0 (0,0-0,02)	11,4	0,0 (0,0-0,02)	0,337	0,355
Criseno	4,9	0,0 (0,0-0,01)	5,7	0,0 (0,0-0,01)	0,810	0,802
benzo(b)fluoranteno	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
Benzo(k)fluoranteo	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
Benzo(a)pireno	0,5	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	1,000	0,400
indeno(1,2,3-c,d)pireno	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
benzo(g,h)perileno	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000

Abreviaturas: p5-p95, percentiles 5 y 95 de la distribución; NA, no aplicable.

*, Test de Chi cuadrado (entre el porcentaje de detección de casos y controles)

#, Test de Kruskal Wallis (entre las medianas de casos y controles)

Al agrupar a los compuestos tal y como se ha descrito, observamos una diferencia significativa en su distribución entre casos y controles, tanto en función a la frecuencia de detección como a la concentración de los compuestos, siendo

mayor entre los controles que entre los casos, tanto para el sumatorio de PAHs (71,4 vs 63,6% y 1,0 vs 0,6 ng/ml de suero; $p = 0,027$ y $p = 0,010$, respectivamente) como para el sumatorio de PAHs pertenecientes al Grupo 3 de la IARC (68,0 vs 57,1% y 1,0 vs 0,6 ng/ml de suero; $p = 0,007$, $p = 0,013$, respectivamente).

Tabla 25. Distribución de sumatorios de PAHs entre los controles y los casos. Se incluye el porcentaje de detección de los mismos en ambos grupos

Compuesto	Controles		Casos		p*	p#
	%	Mediana (p5-p95)	%	Mediana (p5-p95)		
Sum PAHs	71,4	1,0 (0,0-5,8)	63,6	0,6 (0,0-4,7)	0,027	0,010
Sum PAHs-2B	18,4	0,0 (0,0-0,04)	15,0	0,0 (0,0-0,04)	0,380	0,366
IARC						
Sum PAHs-3	68,0	1,0 (0,0-4,9)	57,1	0,6 (0,0-4,2)	0,007	0,013
IARC						

Abreviaturas: p5-p95, percentiles 5 y 95 de la distribución; PAHs, hidrocarburos aromáticos policíclicos; IARC, Agencia Internacional de Investigación del Cáncer.

*, Test de Chi cuadrado (entre el porcentaje de detección de casos y controles)

#, Test de Kruskal Wallis (entre las medianas de casos y controles)

Al segmentar a la población en función del sexo, observamos que únicamente entre la población de controles, la mediana de concentración de la carga total de PAHs (Sum PAHs) y de PAHs pertenecientes al grupo 3 de la IARC (Sum PAHs 3) era significativamente mayor entre los hombres que entre las mujeres (1,075 vs. 0,0629 ng/ml suero, $p = 0,031$ para Sum PAHs; y 1,0027 vs. 0,0491 ng/ml suero, $p = 0,043$ para Sum PAHs 3). Al comparar casos frente a controles, observamos que los hombres pertenecientes al grupo control tenían unas concentraciones superiores de Sum PAHs y Sum PAHs 3 que los hombres con CaV (1,075 vs. 0,6442 ng/ml suero, $p = 0,004$ para Sum PAHs; y 1,0027 vs. 0,6442 ng/ml suero, $p = 0,005$ para Sum PAHs 3) (Figura 17).

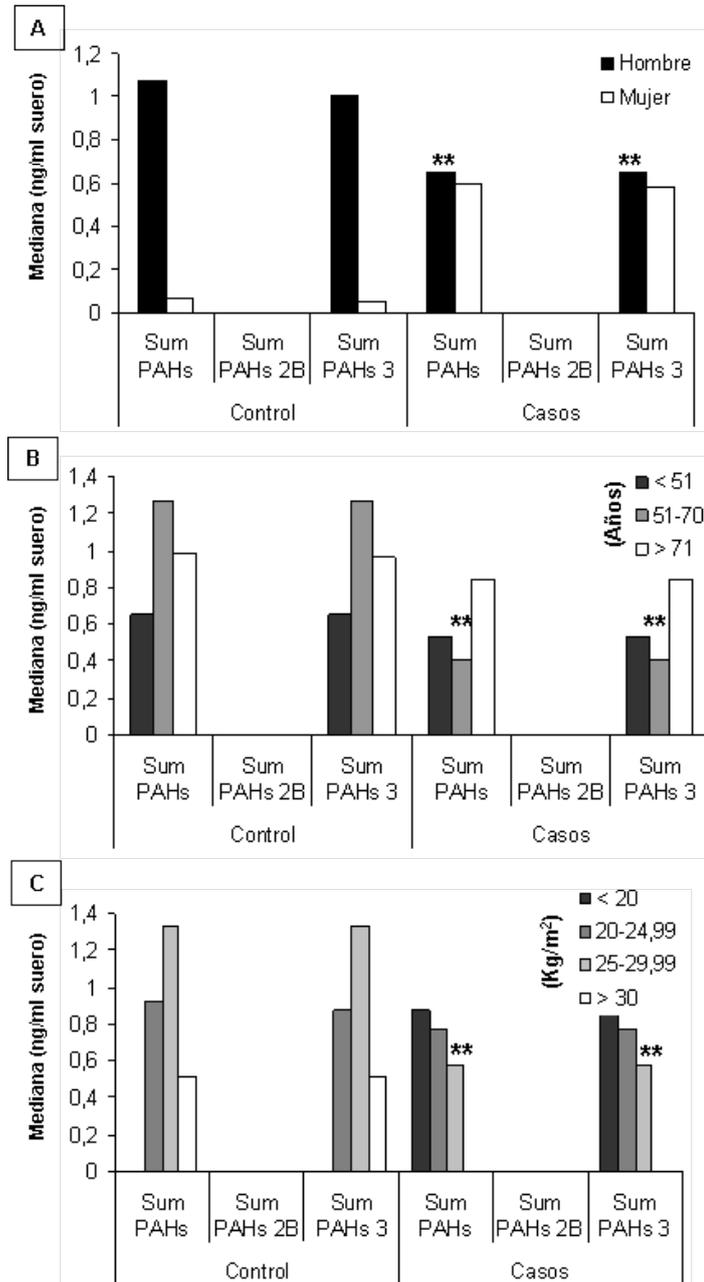


Figura 17. Perfil de distribución de la carga total de PAHs (Sum PAHs), de PAHs pertenecientes al grupo 2B según la clasificación de la IARC (Sum PAHs 2B), y de PAHs pertenecientes al grupo 3 (Sum PAHs 3), según el **sexo (A)**, la **edad (B)** y el **índice de masa corporal (C)**, entre los controles y casos. Los asteriscos indican comparación entre casos y controles. **, $p < 0,01$.

Al segmentar a la población en función de la edad, no observamos diferencias significativas ni entre los controles ni entre los casos. Únicamente en el segmento de

edad comprendido entre los 51 y 70 años, al comparar casos frente a controles, observamos que, los controles tenían niveles de Sum PAHs y Sum PAHs 3 mayores que los casos (1,2717 vs 0,4063 ng/ml suero, $p = 0,006$ para Sum PAHs; y 1,2682 vs 0,4063 ng/ml suero, $p = 0,007$ para Sum PAHs 3) (Figura 18B).

Al segmentar a la población en función del IMC, observamos que únicamente entre la población control, los niveles de Sum PAHs y Sum PAHs 3 eran diferentes según la distribución del IMC, siendo nulo para la población con bajo peso ($n = 2$), aumentando entre los individuos con normopeso y sobrepeso (0,9149 y 1,3276 ng/ml suero) y volviendo a disminuir entre los individuos con sobrepeso (0,5173 ng/ml suero) ($p = 0,009$ y $p = 0,006$). Al comparar casos frente a controles, observamos que únicamente entre los individuos con sobrepeso, los controles tenían mayores niveles de Sum PAHs y Sum PAHs 3 que los hombres con CaV (1,3276 vs 0,5713 ng/ml suero, $p = 0,002$ para Sum PAHs; y 1,3272 vs 0,5713 ng/ml suero, $p = 0,002$ para Sum PAHs 3) (Figura 18C).

Debido a la ausencia de estudios previos en la bibliografía que relacionen sexo, edad e IMC y riesgo de CaV y a las diferencias metodológicas entre nuestro trabajo y los diferentes trabajos consultados (generalmente se realiza cuantificación de niveles de PAHs en orina y no en suero), es difícil de explicar las diferencias que observamos en nuestro estudio en relación al sexo, la edad o el IMC.

En nuestro estudio, el fenantreno apareció como un factor protector asociado al CaV en análisis univariante (OR = 0,776, IC95% 0,638-0,942, $p = 0,011$). Y este efecto se mantuvo incluso al realizar análisis multivariante ajustado por las variables edad, IMC, antecedentes familiares, consumo de café con cafeína, profesión (chófer) y hábito tabáquico (Tabla 26). Ningún otro compuesto aromático policíclico, individual o en sumatorios, se mostró como predictivo para esta patología ni en análisis univariante ni en análisis multivariante.

Con respecto a estos hidrocarburos, se ha de hacer constar que éstos son metabolizados por la superfamilia del citocromo p450 (CYP1B1, CYP1A1, CYP1A2 y

Tabla 26. Asociación entre los niveles de fenantreno y el riesgo de sufrir CaV en análisis multivariante ajustado por covariables

Variable	RR	IC95%	p
Edad	1,012	0,993-1,033	0,215
IMC	0,959	0,891-1,032	0,266
Antecedentes familiares	7,708	0,907-65,54	0,061
Consumo de café	1,602	0,942-2,725	0,082
Profesión (chófer)	1,556	0,755-3,206	0,231
Fumador	5,732	2,746-11,96	< 0,001
Fenantreno	0,792	0,641-0,978	0,030

Abreviaturas: PAHs, hidrocarburos aromáticos policíclicos; RR, riesgo relativo; IMC, índice de masa corporal.

CYP2E1, principalmente) (Schober y cols. 2010). El funcionamiento de estas enzimas está condicionado por diferentes factores, entre los que se encuentra el género. Es por tanto probable que las diferencias de metabolización de estos compuestos en función del sexo del individuo expliquen, al menos parcialmente, las diferencias que observamos en cuanto a los niveles de estos contaminantes entre hombres y mujeres. Además, existe una intrincada relación entre el hábito tabáquico, la dotación genética del individuo en lo relativo a enzimas de metabolización de PAHs (incluida la enzima glutatión-S-transferasa; GST) y los niveles de estos compuestos. De nuevo, los estudios publicados que han explorado estas complejas asociaciones no miden los compuestos químicos en el suero, sino que hacen una aproximación indirecta a través de la cuantificación de metabolitos en orina. En cualquier caso, la relación entre las variables existe, estando además influenciada por otras variables como el tipo de trabajo (con alta exposición a PAHs, como es la de empleado en un asaderos o ahumaderos de alimentos o trabajadores encargados del asfaltado de carreteras) o la dieta (rica en productos a la brasa o ahumados) (Nan y cols. 2001). Por todo ello, la influencia que el sexo, la edad o el IMC puedan tener sobre los niveles séricos de los PAHs debe ser tomada con precaución, ya que

es altamente probable que existan otras variables no tenidas en cuenta en este estudio que puedan ejercer una influencia considerable. Además, no detectamos diferencias significativas debidas al sexo, edad o IMC cuando los principales PAHs fueron analizados individualmente (fenantreno, acenafteno y benzo(a)antraceno) (dato no mostrado). Más aún, las correlaciones bivariadas entre edad e IMC (tomados como variables continuas) y los PAHs (individuales y agrupados) no fueron significativas en ningún caso. No obstante, debido justamente a lo novedoso del estudio, a los presentes resultados se les debe dar su valor, pudiéndose concluir a este respecto que el sexo, la edad y el IMC pueden influir de alguna manera en los niveles séricos de PAHs, aunque otras muchas variables deben ser tenidas en cuenta.

Son numerosos los trabajos científicos que han investigado el papel de los PAHs como factores de riesgo para el cáncer. Esto puede ser debido a la íntima conexión existente entre tabaco y PAHs (Scherer y cols. 1997; Scherer 2005). De hecho se cree que algunos PAHs pueden ser los responsables del potencial cancerígeno del tabaco, aunque esta teoría no está demostrada. Los PAHs necesitan ser bioactivados para poder ser carcinogénicos, por lo que la funcionalidad y eficiencia de las enzimas metabolizadoras (citocromos, GSTs y otras) se torna en un elemento crítico para el potencial carcinogénico de estas sustancias (Alexandrov y cols. 2002). La carcinogenicidad de los PAHs se asocia a la complejidad de la molécula (al aumentar el número de anillos de benceno) y a la activación metabólica, tales como la generación de reactivos intermedios diol epóxido y su posterior unión covalente al ADN (Bostrom y cols. 2002). Por su conexión con el tabaco, gran parte de los trabajos en los que se analiza el papel de los PAHs en la patología tumoral están referidos al cáncer de pulmón. En este sentido, se ha reportado recientemente, en un estudio con 422 casos y 894 controles, que los individuos que trabajan en contacto con el asfalto y el alquitrán tienen un riesgo incrementado de sufrir cáncer de pulmón (McClellan y cols. 2011). Los autores explican parcialmente estos resultados por la alta exposición de este colectivo laboral a determinados contaminantes medioambientales, entre los que destacan los PAHs. No obstante, observan también un papel relevante del hábito tabáquico así como a la presencia

de determinados polimorfismos en el gen que codifica para la enzima Cyp1A1 (McClellan y cols. 2011). No obstante, otro importante estudio con 433 casos y 1.253 controles no ha encontrado esta asociación en el colectivo de trabajadores dedicados al asfalto (Olsson y cols. 2010). Por su parte Armstrong y Gibbs han publicado recientemente un importante trabajo sobre una cohorte de 16.431 personas (15.703 hombres y 728 mujeres), donde analizaron la exposición a PAHs en relación a cáncer de pulmón, teniendo en cuenta el hábito tabáquico (Armstrong y cols. 2009). Los autores concluyeron que el papel de los PAHs como factor de riesgo para el cáncer de pulmón sigue sin estar totalmente definido, no reportando por tanto asociación clara entre ambas variables.

Respecto al cáncer de vejiga, por su asociación con el tabaco, se ha intentado establecer igualmente una relación de riesgo con los PAHs. Clavel y cols. llevaron a cabo un estudio con 658 casos de cáncer de vejiga y 658 controles, en los que valoraron la profesión, el hábito tabáquico, el consumo café y la exposición a PAHs en cinco regiones diferentes de Francia (Clavel y cols. 1994). Observaron, tras ajustar por variables, que la exposición a PAHs provocaba un ligero aumento del riesgo de sufrir la enfermedad (OR 1,3, IC95% 1,0-1,7, $p < 0,05$). Una importante limitación del estudio fue que la determinación de exposición a PAHs se realizó pseudocuantitativamente mediante cuestionarios (Clavel y cols. 1994). Estos resultados coincidían con lo publicado previamente por otros autores, con diseños experimentales similares (Bonassi y cols. 1989). Sin embargo, otros autores han reportado la ausencia de incremento de riesgo de sufrir CaV en determinadas profesiones y concluyen que el hábito tabáquico debe ser considerado como el principal factor de riesgo para la enfermedad (Zeegers y cols. 2001c). Estudios prospectivos han puesto de manifiesto que entre los hombres son los camareros los profesionales con mayor riesgo de sufrir cáncer de vejiga y que entre las mujeres, aquellas con mayor riesgo eran las que trabajaban en la industria tabaquera (Pukkala y cols. 2009). Los autores explican esta asociación mediante una asociación directa con el consumo del tabaco.

En general, la mayoría de los artículos publicados están hechos en

poblaciones de riesgo donde la evaluación de la exposición a sustancias químicas (como los PAHs) se hace de manera indirecta (encuestas) o por cuantificación de metabolitos en orina. En este sentido, esta Tesis Doctoral presenta una metodología novedosa, de casos y controles con base hospitalaria donde los PAHs se han determinado en el suero de los individuos estudiados.

De manera general, se puede afirmar que las asociaciones entre la exposición a los PAHs y el cáncer de vejiga son débiles. Los estudios no suelen mostrar riesgos incrementados por encima de 2, con significaciones estadísticas limitadas, por lo que aún hoy, el papel de estos contaminantes en el CaV no está del todo definido. Máxime cuando la IARC tiene clasificadas a estas sustancias dentro de los grupos con menor potencial carcinogénico (2B y 3).

Se ha de reseñar que en nuestra serie de pacientes observamos que el fenantreno aparecía como factor protector de CaV. El fenantreno es un PAH, considerado como no cancerígeno (grupo 3 de la IARC), y relacionado de alguna manera con problemas en la piel debido a su poder fotosensibilizante. Es encontrado en el humo del cigarrillo siendo su fórmula empírica $C_{14}H_{10}$. Una búsqueda en PubMed con los términos “Phenanthrene bladder cancer risk” no reporta ningún resultado. Para buscar una explicación a este “paradójico” resultado se debe tener en cuenta la compleja metabolización que sufre estas sustancias. Como se dijo anteriormente, la superfamilia de enzimas citocromo P450, codificadas por más de 250 genes, se encargan por oxidación, de la metabolización de xenobióticos entre los que están los PAHs. En concreto, las familias 1, 2 y 3 parecen ser las más relevantes, destacando CYP1A1, CYP1A2, CYP1B, CYP2B, CYP2C y CYP3A, que a su vez están complejamente reguladas (Shou y cols. 1994). Además en los procesos de eliminación de los PAHs entran en juego otras enzimas, entre las que destaca la glutatión-S-transferasa (Hecht y cols. 2009) (Figura 19). Determinadas variantes polimórficas en los genes que codifican para estas enzimas pueden condicionar el funcionamiento de las mismas, modificando los ratios de biotransformación, acumulación y eliminación de esta sustancia. De hecho, Hecht y cols. (2006) han reportado una asociación positiva entre el polimorfismo I462V del

CYP1A1 y la bioactivación del fenantreno (mayor ratio PheT/HOPhe, Figura 19), que era más significativa entre las mujeres y en combinación con la variante polimórfica GSTM1-null (Hecht y cols. 2006). Además, otros polimorfismos, como el CYP1B1R48G y el CYP1B1A119S, parecen asociarse a mayores ratios de eliminación del fenantreno (menor ratio PheT/HOPhe) (Hecht y cols. 2006).

Hay estudios que han reportado una influencia del tabaco en la metabolización del fenantreno. Así, el ratio PheT/HOPhe era mayor entre los fumadores que entre los no fumadores, lo que demuestra que el hábito tabáquico induce la metabolización por diol epóxidos, y sugiere que la inducción de la metabolización de los PAHs contribuye a aumentar el riesgo de cáncer por el tabaco (Hecht y cols. 2005).

Dada la complejidad de la metabolización de este compuesto, que además está condicionada por la presencia de determinados polimorfismos, es más que probable que las diferencias de concentración de fenantreno entre nuestra población de casos y de controles sea debida a variables genéticas. Debido a ello en otro capítulo de esta Tesis Doctoral se evalúan la presencia de determinados polimorfismos de genes implicados en la eliminación de los PAHs, así como otros polimorfismos en genes implicados en procesos de carcinogenicidad.

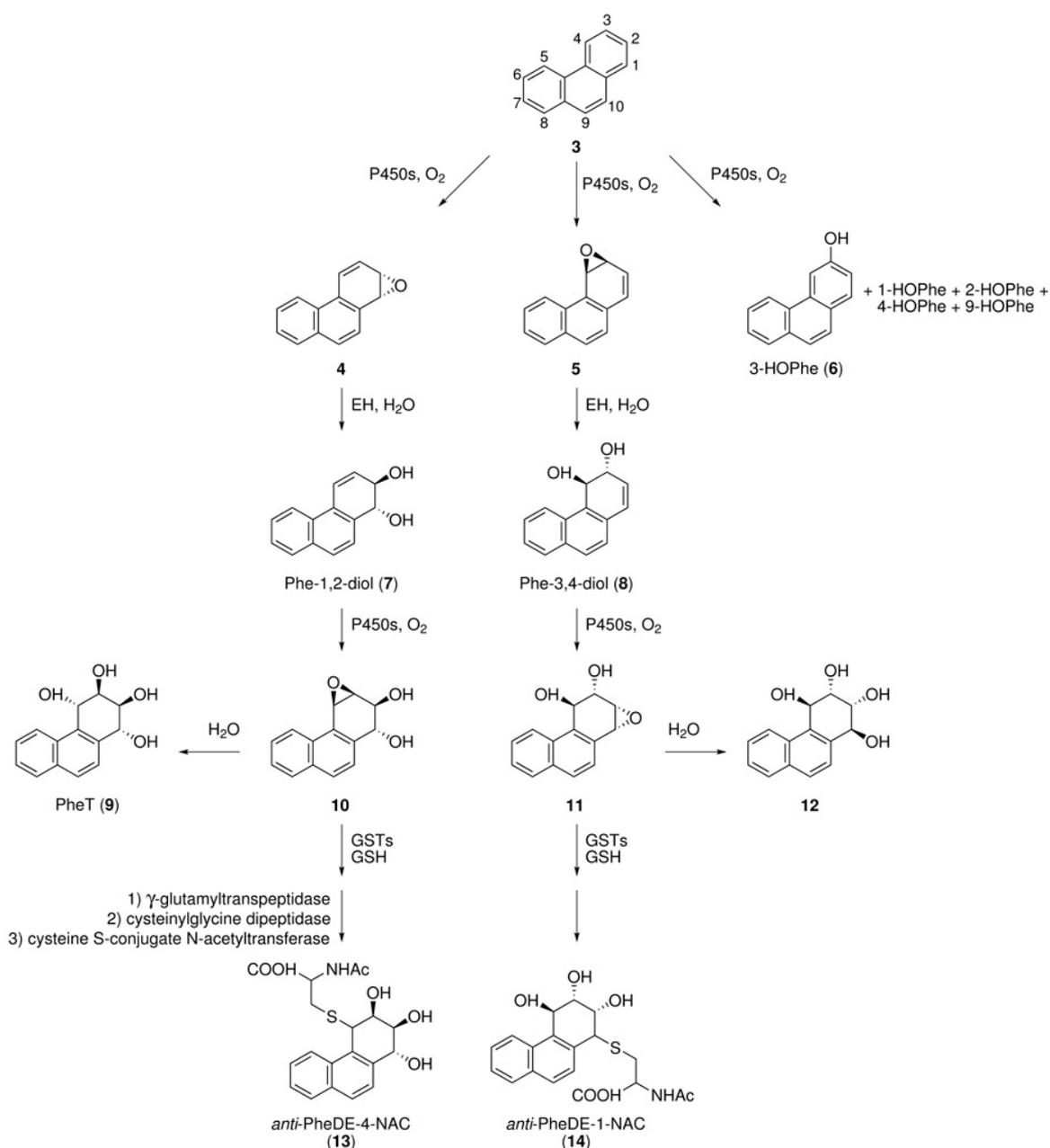


Figura 18. Esquema que representa la metabolización del fenantreno (3) a epóxidos de tipo diol y ácidos mercaptúricos. El fenantreno puede ser metabolizado a fenantrol (HOPhe, -6-) y eliminado, siendo esta sustancia un marcador de detoxificación. Por otro lado, el fenantreno puede sufrir activación metabólica (PheT -9-). El ratio PheT/HOPhe da idea de la metabolización del fenantreno. Mediante la conjugación con glutatión (10) se produce ácido mercaptúrico, no detectado en orina humana. La conjugación con diol epóxido (11) produce *anti*-PheDE-1-NAC (14) que es eliminado (Hecht y cols. 2009).

8. EXPOSICIÓN A CONTAMINANTES DE ORIGEN AGRÍCOLA Y AMBIENTAL, Y CÁNCER DE VEJIGA: PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS (POCs).

Teniendo en cuenta la bibliografía previa en la que se consideraba la posibilidad de que la profesión de agricultor fuera un potencial factor de riesgo para el CaV, se decidió determinar en el presente trabajo los niveles de los plaguicidas más persistentes, esto es aquellos incluidos en el grupo de los plaguicidas organoclorados (OCs), en las muestras de suero de los individuos pertenecientes a los grupos de casos y controles. A pesar de que el uso de la mayoría de los OCs está prohibido en España y otros países occidentales desde los años 70 del pasado siglo, sus efectos adversos (entre ellos su potencial carcinogenicidad) y su alta persistencia en el medio ambiente (debida a su liposolubilidad), hace que este tipo de plaguicidas se sigan detectando en la población española y canaria, especialmente en las personas de mayor edad, como las que están incluidas en nuestro estudio, ya que éstas se expusieron directamente a OCs cuando éstos no habían sido aún prohibidos.

En nuestra muestra, se detectaron una media de 3,28 compuestos de este tipo por individuo entre los controles (rango, 0-7) y de 3,17 (rango 0-7) entre los casos de CaV ($p > 0,05$). Siendo el 4,4-DDE, principal metabolito del DDT, el más frecuentemente medido (más del 70%). Su alta liposolubilidad permite que este tipo de compuestos se acumulen en la grasa, siendo lógico pensar que cuanto mayor edad tenga el individuo, mayores serán sus niveles de este tipo de compuestos

Aunque no detectamos diferencias significativas en la distribución de estos compuestos entre los grupos de casos y controles, llaman la atención algunos resultados resumidos en la Tabla 27. A pesar de que en España, el DDT se prohibió a finales de la década de 1970, más del 14% de la población en estudio presentó niveles detectables de esta sustancia y más del 75% de los individuos tenían niveles detectables de 4,4-DDE, tanto entre los casos como entre los controles. Y lo que es aún más llamativo casi el 90% de la población de casos presentaba niveles detectables de algún derivado del DDT (Tabla 27). Estos datos están de acuerdo

con lo observado por otros autores en otras poblaciones (Snedeker 2001; Glynn y cols. 2003). Lo mismo puede decirse para el caso de los isómeros beta y gamma del hexaclorociclohexano (HCH) detectados en alrededor del 80% de los individuos incluidos en este estudio, y la dieldrina, detectado en más del 30% (todos estos plaguicidas están prohibidos en nuestro país desde hace años, pero su elevada persistencia y estabilidad les convierte en contaminantes ambientales ubicuos). Asimismo, más del 40% de los individuos presentaban niveles detectables de hexaclorobenceno (HCB), un producto altamente contaminante usado como disolvente en la formulación comercial de OCs.

Tal y como se puede observar en la Tabla 27, los contaminantes que alcanzaron mayores niveles de residuos en nuestra muestra fueron el 4,4'-DDE (1,5 ng/g de lípido de mediana, alcanzando niveles de 26,2 ng/g de lípido en el percentil 95 en el grupo de controles) y HCH alfa y gamma (1 ng/g de lípido de mediana, alcanzando niveles de 13,9 ng/g de lípido en el percentil 95 en el grupo de controles).

Los diferentes compuestos se analizaron agrupándolos en función de su estructura química con la intención de comprender mejor la distribución de los mismos entre casos y controles (Tabla 28). Así, el total de OCs está compuesto por la suma de todos los compuestos; el total de poliaromáticos clorados es la suma de 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, 4,4'-DDD y metoxiclor; el total de DDT es la suma de 4,4'-DDT, 4,4'-DDE y 4,4'-DDD; el total de HCH es la suma de los isómeros alfa, beta, delta y gamma; el total de ciclodienos lo compone la suma de aldrina, dieldrina, endrina, heptacloro, clordano-cis, clordano-trans, alfa endosulfan, beta-endosulfan, endosulfan-sulfato y mirex; y el total de endosulfán está compuesto por la suma de los compuestos alfa endosulfan, betaendosulfan y endosulfan-sulfato.

Tabla 27. Distribución de pesticidas clorados (ng/ml de suero) entre los controles y los casos. Se incluye el porcentaje de detección de los mismos en ambos grupos

Compuesto	Controles		Casos		p*	p#
	%	Mediana (p5-p95)	%	Mediana (p5-p95)		
4,4'-DDT	14,1	0,0 (0,0-0,1)	12,1	0,0 (0,0-0,1)	0,419	0,368
4,4'-DDE	77,2	1,5 (0,0-26,2)	84,3	1,7 (0,0-14,6)	0,641	0,275
4,4'-DDD	1,0	0,0 (0,0-0,0)	2,9	0,0 (0,0-0,0)	0,408	0,240
HCB	45,6	0,3 (0,0-2,5)	41,4	0,0 (0,0-2,1)	0,081	0,419
HCH alfa	1,5	0,0 (0,0-0,0)	1,4	0,0 (0,0-0,0)	1,000	0,874
HCH beta y gamma	75,2	1,0 (0,0-13,9)	80,7	0,8 (0,0-5,9)	0,332	0,086
HCH delta	6,8	0,0 (0,0-0,0)	7,9	0,0 (0,0-0,0)	1,000	0,897
Aldrina	3,4	0,0 (0,0-0,0)	5,7	0,0 (0,0-0,02)	0,434	0,408
Dieldrina	33,0	0,0 (0,0-0,4)	40,7	0,0 (0,0-0,4)	0,478	0,804
Endrina	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
Heptacloro	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
Clordano cis	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
Clordano-trans	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
alfa Endosulfán	2,9	0,0 (0,0-0,0)	2,1	0,0 (0,0-0,0)	0,737	0,537
beta Endosulfán	2,4	0,0 (0,0-0,0)	4,3	0,0 (0,0-0,0)	0,539	0,433
Endosulfán-S	0,0	0,0 (0,0-0,0)	0,0	0,0 (0,0-0,0)	NA	1,000
Metoxicloro	5,3	0,0 (0,0-0,02)	5,0	0,0 (0,0-0,02)	0,809	0,695
Mirex	0,5	0,0 (0,0-0,0)	1,4	0,0 (0,0-0,0)	0,580	0,413

Abreviaturas: p5-p95, percentiles 5 y 95 de la distribución; HCB, hexaclorobenceno; HCH, hexaclorociclohexano; S, sulfato; NA, no aplicable.

*, Test de Chi cuadrado (entre el porcentaje de detección de casos y controles)

#, Test de Kruskal Wallis (entre las medianas de casos y controles)

Tampoco en este caso se detectaron diferencias significativas entre los casos y los controles, aunque de manera general, el porcentaje de detección entre los casos era superior al de los controles. Destacamos el hecho de que, salvo para el

total de ciclodienos y endosulfán, el resto de compuestos estaba presente en más del 75% de los individuos analizados, llegando casi al 90% entre los casos para el total de OCs. Tampoco detectamos diferencias significativas respecto a los niveles de residuos.

El sexo, la edad y el IMC son variables biológicas que condicionan los niveles de este tipo de plaguicidas en la población (Zumbado y cols. 2005; Luzardo y cols. 2006), por lo que decidimos analizar la distribución de los mismos en función de esas variables tanto en los casos como en los controles.

Tabla 28. Distribución de sumatorios de pesticidas clorados (ng/ml de suero) entre los controles y los casos. Se incluye el porcentaje de detección de los mismos en ambos grupos

Compuesto	Controles		Casos		p*	p#
	%	Mediana (p5-p95)	%	Mediana (p5-p95)		
Total OCs	81,1	3,5 (0,0-34,8)	88,6	3,0 (0,0-19,5)	0,408	0,168
Total PCI	76,7	1,5 (0,0-26,2)	84,3	1,7 (0,0-14,6)	0,657	0,279
Total DDT	76,7	1,5 (0,0-26,2)	84,3	1,7 (0,0-14,6)	0,657	0,277
Total HCH	75,2	1,0 (0,0-13,9)	82,1	0,8 (0,0-5,9)	0,684	0,092
Total Ciclodienos	35,0	0,0 (0,0-0,4)	43,6	0,0 (0,0-0,4)	0,411	0,765
Total Endosulfán	5,3	0,0 (0,0-0,03)	5,0	0,0 (0,0-0,03)	0,809	0,727

Abreviaturas: p5-p95, percentiles 5 y 95 de la distribución; OCs, organoclorados; PCI, poliaromáticos clorados; HCH, hexaclorociclohexano.

*, Test de Chi cuadrado (entre el porcentaje de detección de casos y controles)

#, Test de Kruskal Wallis (entre las medianas de casos y controles)

Respecto al sexo, observamos únicamente entre la población de casos, que, tal y como se recoge en la bibliografía (Charlier y cols. 2002; Zumbado y cols. 2005), los niveles de los distintos grupos de OCs analizados eran significativamente mayores entre las mujeres, salvo para la carga total de ciclodienos y de endosulfán. Al comparar casos frente a controles, observamos que únicamente entre los hombres, los niveles de carga total de OCs y de HCH eran significativamente menores entre los individuos con CaV (3,64 vs. 2,80; 1,01 vs. 0,78 ng/g lípido, respectivamente) (Figura 17A).

En lo referente a la edad, observamos tanto en los controles como en los casos, que los niveles de los distintos grupos de organoclorados analizados aumentaban conforme aumentaba la edad (salvo para la carga total de ciclodienos y de endosulfán). Tras su correspondiente análisis observamos unos coeficientes de correlación de Spearman de 0,319, 0,291, 0,292 y 0,363, respectivamente para los controles ($p < 0,0001$); y de 0,393, 0,373, 0,371 y 0,342, respectivamente para los casos ($p < 0,0001$). Al comparar casos frente a controles, observamos que únicamente en el rango de edad de los 51 a los 70 años, los niveles de carga total de OCs, PCI, DDT y de HCH eran significativamente menores entre los individuos con CaV (3,97 vs. 2,18; 1,86 vs. 0,97; 1,86 vs. 0,97; y 0,98 vs. 0,52 ng/g lípido, respectivamente) (Figura 17B). En este sentido, estos resultados demostrando una correlación significativamente positiva entre ambas variables, coincide con lo publicado previamente por otros autores (Glynn y cols. 2003).

A pesar de que se ha teorizado igualmente acerca de una asociación entre la carga de OCs y el IMC (Bachelet y cols. 2011), en nuestro estudio no se evidenciaron diferencias de distribución en ningún análisis respecto al IMC (Figura 19). A este respecto, las mujeres con mayores niveles de IMC parecen ser el grupo de población que mayores niveles de residuos de OCs presentan (Bachelet y cols. 2011). Del mismo modo, no observamos este tipo de perfil de distribución entre la población control, posiblemente debido al bajo número de mujeres contenidas en el estudio.

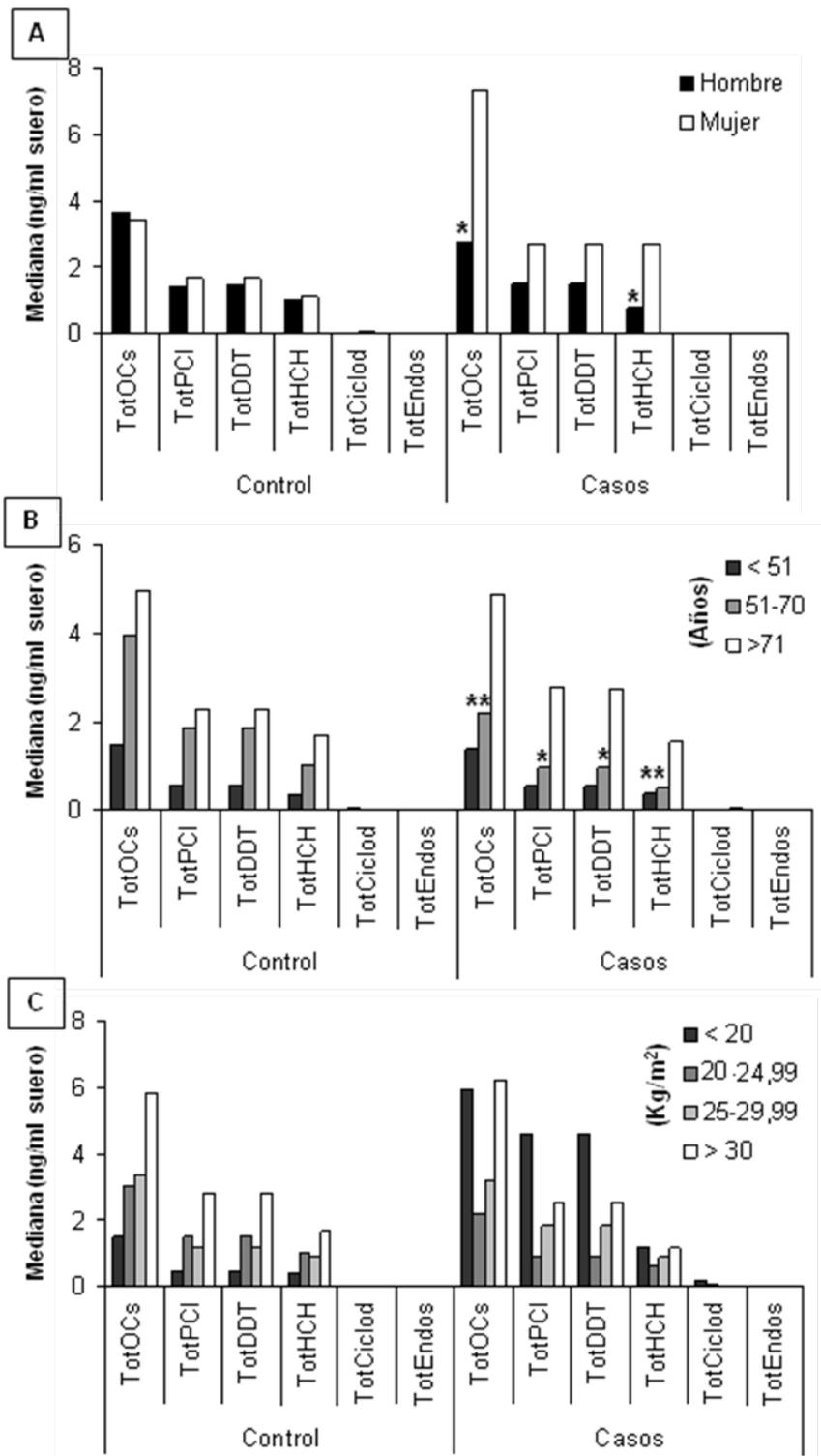


Figura 19. Perfil de distribución de la carga total de organoclorados (TotOCs), de poliaromáticos clorados (TotPCI), de DDT (TotDDT), de hexaclorociclohexano (TotHCH), de ciclodienos (TotCiclod) y de endosulfán (TotEndos), en función del **sexo (A)**, **la edad (B)** y **el índice de masa corporal (C)**, entre los controles y casos. Los asteriscos indican comparación entre casos y controles. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$.

Observamos, tras análisis univariante, que el total de HCH era un factor asociado al CaV, con un odds ratio (OR) de 0,928 ($p = 0,046$, IC95% 0,862-0,999), lo que indica un discreto efecto protector de los HCH para esta patología. Este hallazgo será discutido con posterioridad. Al analizar el tipo de HCH involucrado en esta asociación, observamos que se asociaban significativamente los HCH beta y gamma (OR, 0,928, $p = 0,046$, IC95% 0,861-0,999).

Se procedió a realizar un análisis multivariante, ajustando por edad, hábito tabáquico, consumo de café, antecedentes familiares de CaV y profesión de riesgo (chófer), para explorar el verdadero papel del HCH como factor de riesgo de CaV. Tal y como se resume en la Tabla 29, el tabaco es el factor de riesgo más potente seguido del consumo de café con cafeína. Nuevamente, el total de HCH aparecía como un factor discreto de protección de CaV. No observándose este tipo de asociaciones para ninguno de los demás OCs estudiados.

Tabla 29. Asociación entre la carga total de HCH y el riesgo de sufrir CaV en análisis multivariante ajustado por covariables

Variable	OR	IC95%	p
Edad	1,017	0,996-1,038	0,118
IMC	0,957	0,888-1,032	0,256
Antecedentes familiares	5,707	0,662-47,17	0,113
Consumo de café	1,727	1,002-2,973	0,049
Profesión (chófer)	1,787	0,843-3,789	0,130
Fumador	5,433	2,549-11.58	< 0,001
Total HCHs	0,929	0,865-0,997	0,041

Abreviaturas: HCH, hexaclorociclohexano; OR, odds ratio; IMC, índice de masa corporal.

Tal y como puede observarse en la Figura 17, los niveles de residuos de OCs de tipo DDT en el grupo de casos eran mayores en las mujeres que en los hombres.

Respecto al IMC, aunque no es significativo, sí parece evidente según la Figura 19, que al aumentar este parámetro aumentan los niveles de residuos de OCs, sobre todo entre la población de controles.

El DDT y sus derivados están catalogados dentro del grupo 2B (posiblemente carcinógeno para el ser humano) según la IARC; esto es, hay algunas pruebas de que puede causar cáncer a los humanos pero de momento están lejos de ser concluyentes. Al estratificar por sexo y edad a la población, observamos una diferencia significativa en los niveles totales de OCs, siendo menores entre los pacientes con CaV varones en un rango de edad comprendido entre los 51 y 70 años. No obstante, este hallazgo no fue significativo en análisis de regresión logística. El papel del DDT y sus derivados como factor de riesgo de desarrollo tumoral está en entredicho. Su capacidad xenoestrogénica, mimetizadora de las hormonas sexuales femeninas, le ha relacionado con algún tipo de tumores hormono-dependientes como el carcinoma de mama (Clapp y cols. 2008), aunque con resultados no del todo claros. No hay en la bibliografía estudios que relacionen a este tipo de compuestos con el CaV, ni siquiera en poblaciones de riesgo expuestas a estos compuestos (Clapp y cols. 2008). Esto puede ser explicado, al menos parcialmente, por el proceso de metabolización que tiene este tipo de compuestos; el DDT es degradado a su principal metabolito, el 4,4'-DDE, que queda almacenado en el tejido graso por su alta liposolubilidad. El contacto, por tanto, de este tipo de sustancias con el epitelio de la vejiga es mínimo. Además, la principal vía de eliminación del DDE es la biliar, mientras que el DDD es transformado a DDA y eliminado por la orina (Brooks 1986). Con todo, el potencial carcinógeno de este tipo de compuestos para el CaV debe ser reducido, lo que concuerda con los resultados obtenidos a este respecto en esta Tesis Doctoral.

Los niveles detectados de hexaclorobenceno (HCB) en nuestra población superan el 40% tanto para los controles como para los pacientes con CaV. Los niveles de este contaminante son menores a los detectados por otros autores. Así por ejemplo, entre la población de Cataluña, los niveles de detección superaban el 85% (Porta y cols. 2010), lo mismo que ocurría entre la población de Vizcaya

(Aurrekoetxea Agirre y cols. 2011). Esta discrepancia puede ser debida a diferencias en los hábitos de uso de este tipo de sustancias. Mientras que los pesticidas de tipo DDT fueron extensamente usados en nuestra comunidad autónoma en el pasado, otros, como el HCB, tuvieron un empleo más limitado. No observamos diferencias significativas de los niveles de residuos de HCB entre casos y controles. El HCB pertenece al grupo 2B de clasificación de la IARC, y ha sido relacionado de manera no concluyente con algún tipo de tumores hormono-dependientes (Sawada y cols. 2010; Giannandrea y cols. 2011). No existe bibliografía científica especializada acerca de su posible relación con el CaV.

Respecto a los compuestos de tipo hexaclorociclohexanos (HCHs), observamos que más del 75% de la población sana presentaba niveles detectables de este tipo de sustancias, siendo el más prevalente la suma de los isómeros *beta* y *gamma*. Estos resultados coinciden con lo reportado por otros autores, siendo por ejemplo de 73,8 el porcentaje de detección entre la población de Vizcaya (Aurrekoetxea Agirre y cols. 2011). A pesar de su peligrosidad para los seres vivos y el medioambiente, el principal HCH, el lindano o isómero *gamma*, se ha seguido empleando hasta fechas recientes, prohibiéndose recientemente (2001). Debido a ello se detectan niveles de estos plaguicidas en un alto porcentaje de las poblaciones estudiadas incluida la nuestra. Observamos en nuestra muestra que las mujeres presentaban niveles mayores de este tipo de compuestos y que existía una correlación positiva con la edad, así como una tendencia con el IMC. Los resultados presentados coinciden con lo publicado por otros autores en estudios realizados incluso en nuestro país (Porta y cols. 2010).

Observamos que el total de HCH, y más concretamente, el sumatorio de los compuestos HCH *beta* y *gamma*, aparecían en análisis univariante y multivariante, como discretos protectores de cáncer de vejiga. Este resultado debe ser tomado con precaución y analizado pertinentemente en su contexto. En principio, la significación estadística es limitada ($p = 0,041$), con un riesgo relativo de 0,929 cercano a 1,000 (que implica la ausencia de riesgo). Aún así, el papel protector de ciertos agentes contaminantes frente a procesos tumorales es un hecho recogido en la literatura

científica. Angsubhakorn y cols. publicaron un trabajo donde observaban que la administración a baja dosis de lindano (γ -HCH) inhibía la hepatocarcinogénesis inducida por aflatoxina en modelos animales (Angsubhakorn y cols. 1989). El lindano era capaz de aumentar la actividad enzimática del hígado favoreciendo la eliminación de la aflatoxina y reduciendo por tanto la aparición de tumores hepáticos asociados a esta sustancia. Esto ha sido parcialmente reproducido en algún estudio de casos y controles en población humana. Así, se ha observado una asociación negativa entre los niveles de HCH β y el cáncer de próstata en población japonesa (Sawada y cols. 2010). Es más, algún estudio ha publicado resultados en los que muestra que altas concentraciones de pesticidas organoclorados (cis-nanoclor, mirex) y otras sustancias (PCBs) disminuyen el riesgo de cáncer de mama (Itoh y cols. 2009). Los autores argumentan como posible explicación los bajos niveles de residuos detectados en su población, así como la participación de otros factores riesgo (nivel basal de hormonas sexuales, por ejemplo).

Los compuestos de tipo HCH pertenecen al grupo 2B según la IARC, y la bibliografía especializada al respecto reporta ausencia de correlación entre la exposición a este tipo de sustancias y el riesgo de cáncer (Man y cols. ; Lopez-Carrillo y cols. 2002; Iwasaki y cols. 2008), aunque otros estudios sí observan aumento del riesgo sobre todo en relación a tumores de tipo hepático y hormono-dependiente (Kumar y cols. 2010; Xu y cols. 2010; Zhao y cols. 2011). Nada existe publicado en relación al cáncer de vejiga, donde se observa por primera vez un discreto efecto protector frente a esta patología que debe ser considerado con precaución dada la potencia estadística del análisis y la controvertida participación de estas sustancias en la carcinogénesis.

Respecto a los ciclodienos, solo aldrina y dieldrina fueron detectados en las muestras, destacando los niveles de dieldrina, presentes en más del 30% de los controles y del 40% de los casos (aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. En un estudio previo en nuestra población, los niveles de detección de dieldrina fueron del 27,2 de la población (Luzardo y cols. 2006), lo cual coincide con lo observado en el presente trabajo de Tesis. No obstante, los niveles de aldrina y de

endrina fueron del 66,9 y 72,0 respectivamente (Luzardo y cols. 2006), lo que contrasta con el 3,4 y 0,0 % detectado en el presente trabajo. Los niveles de residuos de ciclodienos eran significativamente mayores entre la población joven, ausente totalmente en la muestra de población estudiada en esta Tesis Doctoral, lo que puede ayudar a explicar la disminución de los porcentajes de detección de esas sustancias. Por otra parte, mientras que las muestras de aquel estudio fueron recolectadas a mediados de la década de 1990, las muestras de este estudio han sido recogidas más de quince años después, con lo que el perfil de residuos puede haber cambiado para determinadas sustancias durante ese periodo de tiempo. Nuestros resultados, no obstante, son similares a los reportados por otros autores en otras poblaciones (Ritchie y cols. 2003).

Los ciclodienos pertenecen también al grupo 2B según la clasificación dada por la IARC, con lo que es plausible que no se observe diferencia alguna de este tipo de sustancias entre los casos y los controles, y que estas sustancias no aparezcan como factor de riesgo asociado a CaV. Estos resultados concuerdan con lo reportado previamente por otros autores en otros tipos tumorales (Ritchie y cols. 2003), ya que no hay estudios publicados en relación al papel que los ciclodienos puedan tener en el cáncer de vejiga.

Por último, el endosulfán fue detectado en el 5% de los individuos de nuestro estudio, no habiéndose observado diferencias significativas entre los casos y los controles. Nuestros resultados coinciden con lo reportado por otros autores (6,06%) en otras poblaciones (Varona y cols. 2010). La Organización Mundial de la Salud tiene clasificado al endosulfán como de Clase II, esto es, producto de moderado riesgo. La Agencia de Protección Medioambiental (EPA) clasifica esta sustancia como de categoría I (de alta toxicidad aguda). No está listado por la IARC como carcinógeno conocido, ya que no hay estudios epidemiológicos que asocien la exposición al endosulfán específicamente con el cáncer en humanos.

En resumen, ninguno de los pesticidas organoclorados medidos en la población en estudio era significativamente diferente entre casos y controles. La

práctica totalidad de estas sustancias está dentro del grupo 2B según la IARC, con lo que estos resultados pueden considerarse esperables. El discreto efecto protector observado para el HCH β y γ debe ser considerado con precaución y, dado que, según la bibliografía determinados polimorfismos genéticos parecen relacionarse con los niveles de contaminantes y condicionan el riesgo de desarrollo de algunas patologías, entre las que puede encontrarse el CaV, se decidió explorar la situación de nuestra población con respecto a diferentes polimorfismos potencialmente relacionados con la carga de contaminantes. Tales resultados se analizan en apartados posteriores de esta Tesis Doctoral.

9. EXPOSICIÓN A CONTAMINANTES AMBIENTALES DE ORIGEN INDUSTRIAL Y CÁNCER DE VEJIGA: BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs).

Dada la relevante vinculación de ciertos grupos de profesiones con el riesgo de CaV se decidió incluir en este estudio la determinación, en el suero de los individuos pertenecientes a los grupos de casos y controles, de niveles de contaminantes de origen industrial, entre los que destacan por su ubicuidad y persistencia los bifenilos policlorados (PCBs). Dado que un número importante de congéneres de PCBs muestran características tóxicas y carcinogénicas similares a las dioxinas (*dioxin-like* PCBs; DL-PCBs) este tipo de compuestos se suelen utilizar para monitorizar los niveles de contaminantes químicos en la población (Henriquez-Hernandez y cols. 2011a). De hecho, los niveles de PCBs en la población de la Comunidad Autónoma de Canarias son bajos con respecto a los descritos en otras poblaciones occidentales de nuestro entorno (Henriquez-Hernandez y cols. 2011a). A pesar de la conocida carcinogenicidad de estos contaminantes, especialmente aquellos con características similares a las dioxinas, que sepamos esta es la primera vez que se estudia el papel de los PCBs en relación al CaV en población no de riesgo. De hecho, la mayoría de los estudios publicados acerca de los PCBs y su relación con cáncer de vejiga se han realizado en población de riesgo (trabajadores de la industria altamente expuestos a estas sustancias químicas), y no en estudios de casos y controles (Steineck y cols. 1990; Prince y cols. 2006). Además, parte de esos estudios no realizan determinaciones séricas de los contaminantes, sino que valoran la exposición a los mismos según encuestas de población (Steineck y cols. 1989).

En nuestra muestra, la frecuencia de detección de congéneres de PCBs fue similar en casos y controles. Así entre los controles se detectó una media de 5,4 congéneres de PCBs por individuo (rango, 0-11), y entre los casos se detectaron una media de 5,6 (rango 0-11).

Con respecto a los DL-PCBs, la frecuencia de detección también fue similar entre ambos grupos, presentando una media de 1,4 congéneres (rango, 0-5) los

sujetos del grupo control y 1,6 (rango 0-5) los sujetos afectados de CaV.

Se ha de destacar que en más del 70% de las muestra se detectaron residuos de los congéneres considerados como marcadores de contaminación ambiental por PCBs (PCBs marcadores; M-PCBs; PCB-28, PCB-138, PCB-153 y PCB-180) y que la frecuencia de detección de M-PCBs fue mayor entre los casos que en los controles (aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística). Entre estos M-PCBs fue el congénere 28 el más frecuentemente detectado en ambos grupos (76,7 y 82,9% para controles y casos, respectivamente) mientras que el M-PCB con mayores niveles de residuos fue el PCB-153, alcanzando los 0,8 ng/ml de suero en el percentil 95 (Tabla 30). Al igual que ocurre de manera generalizada en otras poblaciones a nivel mundial, observamos que una alta proporción de los individuos analizados presentan algún tipo de residuo de PCB, a pesar de que su uso en la industria se prohibió en la década de 1970. Esto se debe a la elevada liposolubilidad y resistencia a la degradación de estos compuestos, lo que les hace permanecer inalterados en el medio ambiente durante décadas. La alta presencia de los congéneres 153 y 180 coincide con lo reportado por nuestro grupo en estudios previos (Henriquez-Hernandez y cols., 20), y por lo reportado por otros autores en poblaciones españolas (Fernandez y cols. 2008; Agudo y cols. 2009) y extranjeras (Fitzgerald y cols. 2007; Donato y cols. 2008; Kang y cols. 2008). Sin embargo, el porcentaje de individuos con niveles detectables de PCB-28 es especialmente alto en nuestra muestra (por encima del 70% tanto para los casos como para los controles). Este hecho contrasta claramente con lo previamente publicado por nuestro grupo y por otros (Aurrekoetxea Agirre y cols. 2011) en cuyas poblaciones este congénere se detectaba poco frecuentemente (Henriquez-Hernandez y cols. 2011a). No hemos encontrado asociación significativa entre los niveles de PCB-28 (ya sea en valores absolutos o categorizada la variable según haya sido el producto detectado o no) y otras variables demográficas (edad, sexo, IMC, hábito tabáquico, profesión de riesgo o hábitat) por lo que es difícil encontrar explicación a este resultado. No obstante, Fitzgerald y cols. han publicado un reciente estudio en el que reportan altos niveles de PCB-28 en 170 individuos sanos con un rango de edad comprendido entre los 55 y 74 años y residentes en áreas cercanas al río Hudson,

estableciendo una correlación positiva entre la presencia de PCB-28 en el suero de los individuos y en el aire respirado por los sujetos estudiados (Fitzgerald y cols. 2011). Estos resultados se explican porque el PCB-28 es muy volátil, lo que facilita su dispersión por el aire. Aunque la variable no fue recogida en nuestro estudio, es probable, por la edad media de los individuos incluidos en nuestra muestra, éstos habiten o hayan habitado casas construidas antes de 1980, (cuando los PCBs estaban aún permitidos) por lo que es más que probable el contacto cotidiano con este congénere a través del aire respirado. En este aspecto, observamos que el número de individuos que habitaban en ambientes rural y semirural (donde la edad media de las casas se presume que pueda ser mayor que en ambientes urbanos) aumentaba conforma aumentaba el grupo de edad. Así, solo 11 sujetos menores de 51 años vivían en este tipo hábitat; ese número aumentaba hasta 32 en el rango de edad de 51 a 70; y ascendía a 40 para los individuos con más de 71 años ($p = 0,052$). Esta distribución de los sujetos incluidos en nuestro estudio, que nos indica indirectamente la mayor posibilidad de exposición a PCB-28 a través del aire respirado en viviendas antiguas, puede justificar los altos niveles de PCB-28 encontrados en este estudio. Otra variable interesante que debe ser explorada en estudios futuros, por su importancia para la Salud Pública, es el tiempo vivido en ese tipo de ambientes potencialmente contaminados por residuos de los PCBs más volátiles. En este sentido, el estudio de Fitzgerald mostró mayor significación estadística para aquellos individuos que habían vivido durante más de 39 años en casas construidas antes de 1980 (Fitzgerald y cols. 2011).

En cualquier caso, la discrepancia de resultados respecto al PCB-28 mostrada entre los estudios previos de nuestro Grupo (Henriquez-Hernandez y cols. 2011a) y los referidos en el presente trabajo pueden también explicarse, al menos parcialmente, por la diferente metodología analítica empleada.

Tampoco existieron diferencias respecto a los DL-PCBs entre los dos grupos (casos y controles). Los DL-PCBs más frecuentemente detectados fueron el PCB-118 (65,0 y 71,4% para controles y casos, respectivamente), el PCB-157 (15,5 y 20%, respectivamente) y el PCB-126 (9,2 y 7,9%, respectivamente). Respecto a

concentración, el DL-PCB con mayores niveles de residuos fue el PCB-118. Se ha de destacar que los niveles de este DL-PCB fueron mayores en los casos (0,5 ng/ml en percentil 95) que en los controles (0,3 ng/ml de suero en el percentil 95), aunque esta diferencia no fue significativa (Tabla 30).

Los niveles de DL-PCBs detectados son también mayores en comparación a lo reportado previamente en nuestra población (67,5 vs. 45,8% respectivamente) (Henriquez-Hernandez y cols. 2011a). Solo el 32% de la población estudiada previamente era mayor de 50 años. Dado que los niveles de DL-PCBs aumentan con la edad (Apostoli y cols. 2005), es posible que esta discrepancia en los datos se deba principalmente a la distribución de individuos según la edad. El que los congéneres mayoritariamente detectados fueran el PCB-118 (65,0%) y el PCB-157 (15,5%) coincide con lo reportado previamente por otros autores (Petrik y cols. 2006; Aurrekoetxea Agirre y cols. 2011).

Para el análisis estadístico de los resultados, los diferentes congéneres se agruparon en función de sus características químicas y toxicológicas. Así empleamos la carga total de PCBs (Sum PCBs) como la suma de todos los PCBs cuantificados en cada muestra; la carga total de M-PCBs (Sum Markers) como la suma de todos los congéneres considerados M-PCBs; la carga total de DL-PCBs (Sum DL-PCBs) como la suma de todos los congéneres con actividad similar a las dioxinas; asimismo los DL-PCBs se han analizados separadamente en función de su estructura como los no orto derivados (Sum no-orto) y los mono orto derivados (Sum mono-orto) (Tabla 31).

Tal y como puede apreciarse en la Tabla 31, más del 90% de los casos presentaban niveles detectables de Sum PCBs Total y Sum Markers, alcanzando este tipo de congéneres, marcadores de los niveles de contaminación ambiental, niveles de más de 3 ng/ml de suero en el percentil 95. Es de resaltar el hecho de que más del 73% de los casos presentaban niveles detectables de los PCBs más carcinogénicos, Sum DL-PCBs, alcanzando niveles de 0,5 ng/ml de suero en el percentil 95.

Tabla 30. Distribución de bifenilos policlorados (PCB) entre los controles y los casos (ng/ml suero). Se incluye el porcentaje de detección de los mismos en ambos grupos

Compuesto	Controles		Casos		p*	p#
	%	Mediana (p5-p95)	%	Mediana (p5-p95)		
Marker PCBs						
PCB-28	76,7	0,1 (0,0-0,5)	82,9	0,2 (0,0-0,6)	0,512	0,415
PCB-52	39,8	0,0 (0,0-0,1)	45,7	0,0 (0,0-0,1)	0,493	0,465
PCB-101	27,2	0,0 (0,0-0,02)	28,6	0,0 (0,0-0,03)	1,000	0,701
PCB-118	65,0	0,0 (0,0-0,3)	71,4	0,0 (0,0-0,5)	0,519	0,571
PCB-138	74,3	0,1 (0,0-0,5)	70,0	0,1 (0,0-0,7)	0,095	0,581
PCB-153	74,8	0,1 (0,0-0,8)	75,0	0,1 (0,0-0,8)	0,468	0,365
PCB-180	71,4	0,1 (0,0-0,8)	75,7	0,0 (0,1-0,8)	0,888	0,469
DL-PCB (non-ortho)						
PCB-77	1,5	0,0 (0,0-0,0)	0,7	0,0 (0,0-0,0)	0,644	0,503
PCB-81	4,4	0,0 (0,0-0,01)	8,6	0,0 (0,0-0,01)	0,169	0,143
PCB-126	9,2	0,0 (0,0-0,02)	7,9	0,0 (0,0-0,01)	0,698	0,547
PCB-169	1,9	0,0 (0,0-0,0)	0,7	0,0 (0,0-0,0)	0,407	0,332
DL-PCB (mono-ortho)						
PCB-105	1,5	0,0 (0,0-0,0)	3,6	0,0 (0,0-0,0)	0,284	0,222
PCB-114	6,3	0,0 (0,0-0,02)	9,3	0,0 (0,0-0,02)	0,409	0,375
PCB-118	65,0	0,0 (0,0-0,3)	71,4	0,0 (0,0-0,5)	0,519	0,571
PCB-123	6,3	0,0 (0,0-0,02)	9,3	0,0 (0,0-0,03)	0,409	0,318
PCB-156	8,3	0,0 (0,0-0,03)	10,0	0,0 (0,0-0,02)	0,704	0,736
PCB-157	15,5	0,0 (0,0-0,05)	20,0	0,0 (0,0-0,05)	0,386	0,322
PCB-167	0,5	0,0 (0,0-0,0)	0,7	0,0 (0,0-0,0)	1,000	0,804
PCB-189	6,8	0,0 (0,0-0,01)	7,1	0,0 (0,0-0,01)	1,000	0,989

Abreviaturas: p5-p95, percentiles 5 y 95 de la distribución; DL-PCB, dioxina-like PCB.

*, Test de Chi cuadrado (entre el porcentaje de detección de casos y controles).

#, Test de Kruskal Wallis (entre las medianas de casos y controles).

Tabla 31. Distribución de sumatorios de PCBs entre los controles y los casos. Se incluye el porcentaje de detección de los mismos en ambos grupos

Compuesto	Controles		Casos		p*	p#
	%	Mediana (p5-p95)	%	Mediana (p5-p95)		
Sum PCBs	84,0	0,6 (0,0-2,6)	90,7	0,7 (0,0-3,1)	0,325	0,823
Sum Marker	84,0	0,6 (0,0-2,6)	90,7	0,7 (0,0-3,0)	0,325	0,839
Sum DL-PCB	67,5	0,0 (0,0-0,4)	73,6	0,1 (0,0-0,5)	0,508	0,640
Sum no-orto	16,0	0,0 (0,0-0,02)	15,0	0,0 (0,0-0,02)	0,762	0,653
Sum mono-orto	67,5	0,0 (0,0-0,4)	73,6	0,1 (0,0-0,5)	0,508	0,626

Abreviaturas: p5-p95, percentiles 5 y 95 de la distribución; PCB, bifenilos policlorados; DL-PCB, PCBs de tipo dioxin-like.

*, Test de Chi cuadrado (entre el porcentaje de detección de casos y controles)

#, Test de Kruskal Wallis (entre las medianas de casos y controles)

Se ha de resaltar que los niveles de residuos para los principales grupos fueron mayores entre los casos que entre los controles, aunque en ningún caso estas diferencias alcanzaron significación estadística.

Al segmentar a la población según el sexo, observamos que, únicamente entre los casos, las mujeres presentaban niveles significativamente mayores de Sum DL-PCBs I (0,05 vs. 0,11 ng/ml para hombres y mujeres respectivamente, $p = 0,035$) y de la carga de DL-PCBs congéneres mono-orto derivados ($p = 0,030$). A pesar de que este perfil se reproduce entre los controles, las diferencias no eran estadísticamente significativas. Al comparar casos frente a controles, segmentando por sexo, no observamos diferencias significativas entre casos y controles ni entre los hombres ni entre las mujeres (Figura 18A). En nuestro anterior trabajo realizado en población canaria tampoco observamos diferencias en cuanto al sexo

(Henriquez-Hernandez y cols. 2011a). El papel del sexo en este sentido no está del todo definido, existiendo artículos previos que reportan esta asociación (Park y cols. 2007; Cerna y cols. 2008) y otros que no la observan (Burns y cols. 2009; Zubero y cols. 2009).

De forma similar, al segmentar a la población según la edad, no observamos diferencias significativas en función de la edad ni entre los controles ni entre los casos. Al comparar casos frente a controles, segmentando por edad, tampoco observamos diferencias significativas entre casos y controles en ningún segmento de edad (Figura 19B). Es bien conocido el hecho de que este tipo de contaminantes por sus características químicas (alta lipofilia y resistencia a la degradación) se acumulan en el tejido adiposo de los seres vivos, con lo que a mayor edad, mayores niveles de residuos de PCBs. Esto lo hemos observado previamente en nuestra población (Henriquez-Hernandez y cols. 2011a) y ha sido publicado también por otros autores (Cerna y cols. 2008; Zubero y cols. 2009). Sin embargo, este perfil no se observa en la población de casos y controles estudiada debido a que solo se analizaron individuos mayores de 51 años. La horquilla de edad es más estrecha, y debido a ello, las diferencias no se hacen evidentes.

Al segmentar a la población según el IMC, no observamos diferencias significativas en función a esta variable ni entre los controles ni entre los casos. Sin embargo, al comparar casos frente a controles, segmentando por IMC, observamos que únicamente entre los individuos con obesidad (IMC mayor a 30 kg/m^2 , $n = 42$, 25 controles vs. 17 casos), los niveles de Sum PCBs y Sum Markers eran significativamente mayores entre los controles que entre los casos (1,09 vs. 0,37 ng/ml para ambos casos, $p = 0,043$ y $0,040$, respectivamente) (Figura 21C). Como en el caso de la edad, tampoco está del todo definida la influencia que el IMC tenga sobre los niveles séricos de los PCBs. Algunos autores reportan asociación positiva (Fernandez y cols. 2008), otros negativa (Cerna y cols. 2008; Agudo y cols. 2009), y otros reportan ausencia de relación (Schaeffer y cols. 2006). En el presente estudio, detectamos diferencias de concentración entre casos y controles únicamente entre los individuos obesos.

Como se dijo anteriormente, las concentraciones de PCBs detectados en nuestra población son significativamente menores a los reportados en otras poblaciones (Koizumi y cols. 2005; Petrik y cols. 2006; Herrick y cols. 2007; Cerna y cols. 2008; Zubero y cols. 2009). Estos bajos niveles de PCB en suero de la población de Canarias, coincide con nuestros resultados anteriores en los que los M-PCB no fueron detectados en muestras de líquido amniótico de las mujeres de estas Islas (Luzardo y cols. 2009). La situación fue la misma para el caso de los DL-PCBs, cuyos niveles eran menores a los presentes en otras poblaciones (Koppen y cols. 2002; Harden y cols. 2007; De Felip y cols. 2008). Estas diferencias pueden ser explicadas, al menos parcialmente, debido al hecho de que la actividad industrial, con capacidad de haber sido fuente de PCBs, ha sido y es escasa en las Islas Canarias. Por ello, a nivel global, es lógico encontrar, en una población poco industrializada, niveles menores de este tipo de contaminantes cuyo uso predominante estaba en la industria.

Los PCBs están clasificados dentro del grupo 2B (posiblemente carcinógenos para humanos) según la IARC, aunque los DL-PCB pertenecen al grupo 2A (probablemente carcinógenos para humanos). En este trabajo los análisis de riesgo no mostraron ningún resultado significativo, esto es, ningún bifenilo policlorado, individualmente o en grupo, aparecía como factor de riesgo para el CaV. Steineck y cols. (1989) publicaron un trabajo donde observaban que los individuos expuestos laboralmente a PCBs presentaban un riesgo incrementado de padecer CaV de 1,3 (IC95% 1,0-1,8) (Steineck y cols. 1989), aunque tomaban este dato con prudencia dada la baja influencia que esta exposición presentaba para una población de riesgo. Resultados parecidos fueron publicados posteriormente en un estudio de casos y controles con alta exposición laboral a PCBs, reportando un riesgo incrementado para el CaV de 3,3 (IC95% 0,6-18,4), aunque no fue estadísticamente significativo (Steineck y cols. 1990). Un exhaustivo trabajo publicado por Prince y cols. en 2006, analizaba el papel de los PCBs como causa de muerte (incluidas las patologías tumorales) en una cohorte de trabajadores altamente expuestos a PCBs en una fábrica de transformadores eléctricos. Aunque observaron asociación significa-

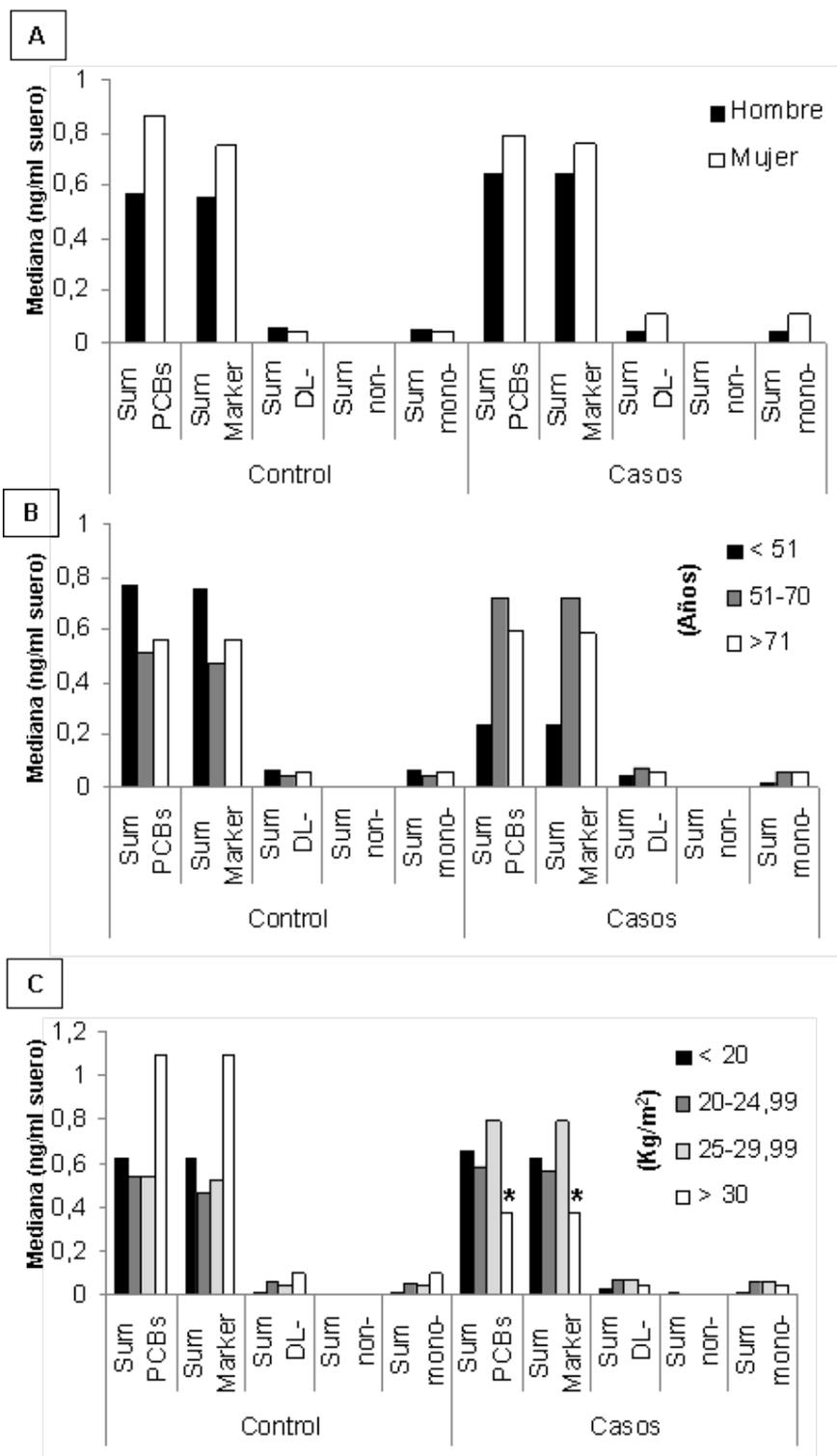


Figura 21. Perfil de distribución de la carga total de PCBs (Sum PCBs), de PCBs de tipo marcador (Sum Marker), de DL-PCBs (Sum DL-PCB), y de non-orto y mono-orto DL-PCBs (Sum non-, Sum mono-), según el **sexo (A)**, la **edad (B)** y el **índice de masa corporal (C)**, entre los controles y casos. Los asteriscos indican comparación entre casos y controles. *, $p < 0,05$.

tiva para algunas patologías (de tipo hepático y biliar fundamentalmente), no observaron asociación significativa con el cáncer de vejiga (Prince y cols. 2006). Un reciente estudio descriptivo comparaba la incidencia de diferentes tipos tumorales comparando los ratios estandarizados mundiales con lo observado en una región altamente expuesta a PCBs en la República Checa (Bencko y cols. 2009). En todos los estudios comentados, la exposición a los contaminantes se valoró en función a encuestas, no habiéndose realizado en ningún caso determinación sérica de los niveles de PCBs en las poblaciones estudiadas. No existen estudios en población general que analicen el papel de los PCBs en relación al cáncer de vejiga, siendo esta la primera vez que se reportan datos al respecto. Existe una gran cantidad de trabajos publicados en otros tipos tumorales que intentan establecer alguna relación entre la exposición a PCBs y el desarrollo de patologías cancerígenas. Es importante resaltar que esta relación sí existe en roedores, pero no está establecida en humanos. De hecho, la comunidad científica parece estar de acuerdo en que la exposición a bifenilos policlorados no es un factor de riesgo importante en el desarrollo de patologías tumorales, descartándose absolutamente su participación, por ejemplo, para el cáncer de mama (Golden y cols. 2009). Ni siquiera los niveles alcanzados en poblaciones de riesgo, altamente expuestas a estas sustancias, parecen ser suficientes para incrementar el riesgo de desarrollo de patologías tumorales. No obstante, y aunque no es motivo de estudio en esta Tesis Doctoral, los PCBs deben ser considerados sustancias peligrosas, asociadas a la aparición de otras enfermedades como la diabetes (Longnecker y cols. 2000; Philibert y cols. 2009), alteraciones cognitivas (Fitzgerald y cols. 2008) y del crecimiento (Burns y cols. 2011).

Por tanto, aunque discretos, los resultados presentados a este respecto en la presente Tesis Doctoral son novedosos y de gran valor epidemiológico.

10. VARIABLES HEREDITARIAS Y CÁNCER DE VEJIGA: ANTECEDENTES FAMILIARES.

Diversos estudios han buscado la relevancia de la herencia y los factores genéticos como factores de riesgo para el desarrollo de CaV. En la mayoría de los estudios se ha encontrado un pequeño aumento del riesgo de CaV en pacientes con familiares afectos de cáncer de vejiga, y dicho riesgo parece ser mayor si los familiares afectados fueron diagnosticados antes de los 60 años. Esta asociación ha sido mayor entre los fumadores (Goldgar y cols. 1994; PIna y cols. 2001; Aben y cols. 2002). Así los resultados del estudio de Lin y cols. (más de 700 casos de CaV y 650 controles) sugieren que los casos de fumadores y con historia familiar de CaV tenían un riesgo 5 veces superior de presentar este cáncer, y que el riesgo del desarrollar CaV estaba aumentado casi 7 veces en sujetos fumadores cuyo familiar había sido diagnosticado de CaV entre los 40 y los 65 años, comparado con sujetos no fumadores y sin antecedentes familiares (Lin y cols. 2006). Asimismo el estudio desarrollado por Murta-Nascimento en población española (1158 pacientes con CaV recién diagnosticado y 1244 controles) concluyó que existe un aumento no significativo en el riesgo de cáncer de vejiga en familiares de pacientes con CaV (OR 2,35; IC 95% 0,95-5,77) (Murta-Nascimento y cols. 2007b). En nuestra población 11 sujetos tenían el antecedente familiar en primer grado de CaV, de los cuales 10 correspondían a casos (7% del total de casos), y solamente 1 a controles, siendo estas diferencias estadísticamente significativas. Sobre todo, los antecedentes más referidos por los casos correspondían a padre, seguido de hermano/a y, con menor frecuencia, madre (Tabla 32). Sin embargo, diversos factores nos obligan a tomar estos resultados con cautela. En primer lugar la baja proporción de individuos en nuestra muestra con antecedentes familiares de CaV, tanto entre los casos como entre los controles. En segundo lugar, es sumamente frecuente entre los casos diagnosticados de CaV que recuerden con mayor intensidad la existencia de otro caso de CaV en su propia familia y, por el contrario, este recuerdo será menos intenso entre los controles, que no tienen la enfermedad tan presente. Esto es lo que se llama “sesgo de recuerdo”. Y finalmente, decir que, aunque la herencia podría jugar un importante factor en el desarrollo del CaV, el presente estudio, al ser de

casos y controles no permite establecer este tipo de hipótesis.

Tabla 32. Antecedentes familiares de cáncer

Variable	Casos	Controles	p
Cáncer en familiar 1 ^{er} grado (%)	7,1	0,5	<0,001
Cáncer en padre (%)	5,0	0,5	0,009
Cáncer en madre (%)	0,7	0,0	0,496
Cáncer en hermano/a (%)	2,9	0,0	0,026

En cualquier caso, la carcinogénesis dentro del urotelio es el resultado de complicadas interacciones entre oncogenes, genes supresores y amplificación/sobreexpresión de genes que codifican los factores de crecimiento o sus receptores, o de genes que codifican la expresión de enzimas biotransformadoras implicadas en los procesos de detoxificación de sustancias químicas exógenas. La variabilidad genética existente entre individuos y/o entre poblaciones puede modificar el riesgo de desarrollar cáncer de vejiga, o modificar su historia natural, y tales factores podrían actuar solos o en interacción con factores extrínsecos. La existencia de factores exógenos tales como la exposición a sustancias químicas procedentes del medio ambiente puede ser un factor determinante en ciertos tumores, como es el caso del cáncer de vejiga, ya que se ha comentado la íntima asociación existente entre la exposición a compuestos carcinogénicos y la aparición de este tumor. En este sentido la carga genética de cada individuo, induciendo la mayor o menor expresión de enzimas involucradas en los procesos de detoxificación/excreción, angiogénesis, y transporte de carcinógenos exógenos, podría ser un factor determinante en el riesgo de sufrir o no un cáncer de vejiga. Por esa razón, en el siguiente apartado de esta Tesis Doctoral, evaluamos la expresión de diferentes polimorfismos presentes en genes relevantes para el desarrollo de una patología tumoral en los sujetos afectos de CaV (casos) y en los controles.

11. VARIABLES HEREDITARIAS Y CÁNCER DE VEJIGA: POLIMORFISMOS GENÉTICOS.

Como ya se ha dicho, el cáncer es una enfermedad compleja de etiología multifactorial donde los factores genéticos y ambientales ejercen una influencia determinante. Son múltiples los estudios que han intentado relacionar la presencia de polimorfismos genéticos con determinados tipos tumorales. En relación al cáncer de vejiga, estos polimorfismos han sido investigados particularmente en genes que codifican para enzimas relacionadas con la metabolización de xenobióticos (glutati6n-S-transferasa, GST) ya que parecen jugar un papel determinante en la carcinog6nesis vesical, pero tambi6n se han investigado polimorfismos relacionados con la proliferaci6n celular y la angiog6nesis (factor de crecimiento endotelial vascular; VEGF) y con la incorporaci6n de xenobi6ticos a la c6lula (resistencia a multidroga;MDR) (Henriquez-Hernandez y cols. 2011b).

Tal y como se recoge en el cap6tulo de “Material y M6todos” de esta Tesis, en este apartado, y por motivos de disponibilidad de muestra y calidad de ADN, el tama6o muestral para el estudio de los polimorfismos gen6ticos qued6 reducido, emple6ndose un subgrupo de la muestra original trabajada en esta Tesis Doctoral (tanto de casos como de controles). La poblaci6n estudiada consisti6 en 119 pacientes (102 hombres y 17 mujeres) histol6gicamente diagnosticados de CaV. La edad media al diagn6stico fue de 65 a6os (mediana 65,2; rango 39-92 a6os). El grupo control estaba formado por 110 sujetos sin c6ncer de vejiga (84 hombres y 26 mujeres) con una media de edad de 65 a6os (mediana 63,3; rango 41-93 a6os).

Se ha de destacar que los resultados de este estudio han sido publicados recientemente por nuestro Grupo de Investigaci6n (Henriquez-Hernandez y cols. 2011b) (ANEXO IV).

De lo comentado hasta ahora en esta Tesis se puede colegir que, en general, los pacientes con c6ncer de vejiga han estado expuestos a xenobi6ticos en una mayor proporci6n que los controles. As6, el h6bito tab6quico estaba presente

mayoritariamente entre los casos ($p < 0,001$) y se constituye en un factor de riesgo evidente para el CaV, con un OR de 3,1 ($p < 0,0001$; 95% CI 1,7–5,8). Debido a ello, decidimos estudiar polimorfismos en enzimas de detoxificación y metabolización de xenobióticos como las enzimas de tipo GST. Este tipo de enzimas son importantes en la metabolización de compuestos potencialmente carcinogénicos. De este modo su mayor o menor actividad puede modificar los niveles de daño al ADN causado por los xenobióticos (como los procedentes del humo del tabaco), pudiendo incrementar el riesgo de enfermedad en determinados tejidos (Miller y cols. 2001). En la especie humana, la actividad GST es muy variable, hecho que puede ser explicado parcialmente por el alto número de polimorfismos que presenta el gen que codifica la enzima (Awasthi y cols. 1994).

En la presente Tesis Doctoral, se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas de los siguientes polimorfismos tanto en la población de casos como los controles: GSTM1 (Glutación-S Transferasa Mu1) y GSTT1 (Glutación-S Transferasa Theta1). Nuestros resultados pusieron de manifiesto que la distribución genotípica del polimorfismo GSTT1 era significativamente diferente entre casos y controles (χ^2 ; $p = 0,016$) (Tabla 33). Así, la proporción de individuos con el genotipo GSTT1-nulo fue mayor entre los casos (66,7 vs. 49,4%, respectivamente). Es interesante destacar que el subgrupo de pacientes mayores de 60 años presentaban una mayor proporción del genotipo GSTT1-nulo (66,6%) en comparación con el grupo control en el mismo rango de edad (46,8 %, $p = 0,031$). En análisis univariante en la serie completa, observamos que el genotipo GSTT1-nulo aparecía como un factor de riesgo significativo para el cáncer de vejiga (OR 2,1; 95% CI 1,1–3,8; $p = 0,023$) (Tabla 34). No obstante, dado que la edad y el hábito tabáquico son factores de riesgo demostrados para esta patología, realizamos un análisis multivariante ajustando por estas dos variables. Así, observamos de nuevo que el genotipo GSTT1-nulo aparecía como un factor de riesgo significativo para el cáncer de vejiga (OR 2,0; 95% CI 1,0–3,7; $p = 0,041$). Estos resultados proponen a este polimorfismo como un posible factor de riesgo de cáncer de vejiga (Tabla 34).

Los individuos con esta variante genética presentan menor capacidad de

detoxificación de diferentes xenobióticos, tales como 1,3-butadieno y óxido de etileno (Pemble et al. 1994; Wiencke et al. 1995). Así mismo, este genotipo se ha asociado al incremento en el riesgo de desarrollo de diferentes tipos de tumores (Deakin y cols. 1996; Unal y cols. 2004), incluido el cáncer de vejiga (McGrath y cols. 2006). A pesar de que otros autores no han observado esta asociación (Kim y cols. 2002; Kim y cols. 2005), la comunidad científica parece inclinarse a pensar que este polimorfismo es un factor de riesgo a tener en cuenta en cáncer de vejiga (Zeng y cols. 2010). Es más, algunos autores que no han detectado esta asociación observan que aquellos individuos doble nulos para GSTT1 y GSTM1 presentan un mayor riesgo de sufrir CaV (Bell y cols. 1993; Song y cols. 2009).

Se ha de destacar que, a pesar de que el polimorfismo GSTM1 y el CaV se habían asociado en diferentes estudios (Bell y cols. 1993), esta asociación no se ha observado en esta Tesis Doctoral, ni siquiera en combinación con los polimorfismos de GSTM1. Esta discrepancia puede ser explicada por las diferencias de distribución genotípica entre poblaciones. La ausencia de actividad enzimática GSTM1 debida a una delección homocigota en el gen es de un 50% en Caucasianos (Rebbeck 1997), aunque la prevalencia del genotipo GSTM1-nulo varía ampliamente según el origen étnico de la población en estudio, oscilando entre un 31 y 88% (Lin y cols. 1994). La frecuencia genotípica de GSTM1-nulo en nuestra población era del 21% para los controles sanos y del 25,6% para los casos, lo que es substancialmente menor a lo esperado. No obstante, nuestros resultados se ajustan a lo reportado por otros que tampoco observan asociación entre el polimorfismo GSTM1 y el riesgo de desarrollar CaV (Kim y cols. 2002; Rouissi y cols. 2009). Sin embargo se ha de tener en consideración el importante papel que el hábito tabáquico parece jugar como factor de riesgo de CaV. De tal forma que, tal y como se reflejó anteriormente, el porcentaje de fumadores entre los controles fue significativamente menor que entre los casos (58,2 vs. 68,9 %, respectivamente), y la edad media de inicio en el hábito tabáquico fue también menor entre los casos (17,3 vs. 18,1 años), aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística. Asimismo, el porcentaje de exfumadores (considerando a éstos como a aquellos fumadores que han abandonado el hábito por un periodo de tiempo mayor a los 10 años) era mayor

entre los casos en comparación con los controles sanos (15,1 vs. 4,5%, $p < 0,0001$). Todo ello obligaba a realizar los análisis estadísticos referentes a los polimorfismos ajustando por edad y hábito tabáquico incluyendo tales variables en un modelo multivariante. Los resultados mostrados en la Tabla 34 confirmaron nuestros resultados iniciales de que el polimorfismo GSTT1 nulo puede considerarse como un factor de riesgo para CaV.

Con respecto a los genes relacionados con la angiogénesis (VEGF A2578C) y a los genes relacionados con transporte y acumulación intracelular de xenobióticos (MDR1 C3435T), tal y como puede observarse en la Tabla 33, no se observaron diferencias estadísticas de distribución genotípica para los polimorfismos estudiados, ni siquiera cuando la muestra fue estratificada por grupos de edad (<50 vs. 50–59 vs. >60 años) o IMC (≤ 25 vs. 25,1–30 vs. >30). El gen MDR1 es tremendamente polimórfico. Y el polimorfismo estudiado por nosotros (C3435T) modifica la función detoxificante de la glicoproteína p en células expuestas a carcinógenos medioambientales (por ejemplo, del humo del tabaco) (Zubor y cols. 2007). Este polimorfismo ha sido también asociado a resistencia a la quimioterapia (Tada y cols. 2002), y propuesto como factor de riesgo para el desarrollo de determinados tumores (Turgut y cols. 2007; Zubor y cols. 2007), aunque esta asociación no se ha visto en pacientes de nuestra comunidad autónoma en relación al cáncer de mama (Henriquez-Hernandez y cols. 2009). Aunque otros autores han sugerido algún papel de MDR1 en relación al comportamiento y biología tumoral en tumores de vejiga (Rioja Zuazu y cols. 2007), este es el primer trabajo que reporta el papel de este polimorfismo en el gen MDR1 en un estudio de casos y controles de cáncer de vejiga. En conclusión, de los resultados del presente estudio, se puede afirmar que el polimorfismo C3435T del gen MDR1 no es un factor de riesgo asociado a CaV. Por otra parte dicho polimorfismo tampoco se asociaba a otras variables clínicas (grado tumoral, recurrencia). Por su parte, VEGF tiene un importante papel en cáncer, siendo crítico para el crecimiento de nuevos vasos, fenómeno clave en el desarrollo tumoral. Se ha propuesto a VEGF como un novedoso factor de riesgo para el CaV. Los estudios publicados indican que variaciones en las regiones reguladoras de VEGF pueden influir sobre el riesgo de desarrollo de este tipo tumoral

(Garcia-Closas y cols. 2007). Existen varios polimorfismos de este gen pero poco se sabe acerca de sus consecuencias, ya que existen pocos conocimientos a nivel funcional a este respecto. Algunos estudios han reportado asociación entre polimorfismos en este gen y determinadas características tumorales. Éstas incluyen mayor nivel de expresión (Prior y cols. 2006), mayores niveles de producción de la proteína (Shahbazi y cols. 2002), aumento de la actividad del promotor (Stevens y cols. 2003) y mayor agresividad tumoral para pacientes con cáncer de mama (Jin y cols. 2005). No obstante, no observamos diferencias significativas en la distribución del polimorfismo A2578C de VEGF entre los casos y los controles, posiblemente debido al menor éxito en la determinación del polimorfismo, lo que se traduce en una disminución de la potencia estadística.

Tabla 33. Distribución alélica y genotípica de los polimorfismos estudiados

	n	Genotipos (n/%)			Alelos (n/%)			
GSTM1		Positivo	Nulo		p	Positivo	Nulo	p
<i>Casos</i>	90	67 (74,4)	23 (25,6)		301			
<i>Controles</i>	81	64 (79,0)	17 (21,0)					
GSTT1								
<i>Casos</i>	90	30 (33,3)	60 (66,7)		16			
<i>Controles</i>	81	41 (50,6)	40 (49,4)					
GSTM1/GSTT1		Ambos positivos	Un alelo nulo	Ambos nulos				
<i>Casos</i>	90	24 (26,6)	49 (54,4)	17 (19,0)	100	48,5 (53,9)	41,5 (46,1)	144
<i>Controles</i>	81	32 (39,5)	41 (50,6)	8 (9,9)		52,5 (64,8)	28,5 (35,2)	
MDR1 C3435T		C/C	C/T	T/T		C	T	
<i>Casos</i>	96	35 (36,4)	40 (41,6)	21 (22,0)	329	55,0 (57,3)	41,0 (42,7)	633
<i>Controles</i>	102	29 (28,4)	53 (51,9)	20 (19,7)		55,5 (54,4)	46,5 (45,6)	
VEGF A2578C		A/A	A/C	C/C		A	C	
<i>Casos</i>	59	11 (18,6)	25 (42,4)	23 (39,0)	263	23,5 (39,8)	35,5 (60,2)	221
<i>Controles</i>	43	14 (32,5)	16 (37,3)	13 (30,2)		22,0 (51,1)	21 (48,9)	

Por tanto, puede afirmarse que, a excepción del GSTT1 nulo el resto de polimorfismos estudiados no eran factores de riesgos significativos asociados a la enfermedad (Tabla 34). Tampoco observamos asociaciones significativas entre la distribución de polimorfismos y variables clínicas (estadio, grado y recurrencia) entre

la población de casos (datos no mostrados).

Tabla 34. Asociación del polimorfismo GSTT1 con el CaV

Genotipo	Odds ratio, Intervalo de Confianza 95%	p
GSTT1 positivo	1 (Categoría de Referencia)	
GSTT1 nulo	2,1 (1,1-3,8) *	0,023
	2,0 (1,0-3,7) #	0,041

* Análisis univariante; # Análisis multivariante ajustado por edad y hábito tabáquico.

En resumen, los presentes resultados sostienen la hipótesis de que los polimorfismos genéticos pueden ser importantes para determinar la susceptibilidad individual al cáncer de vejiga. Así, los individuos portadores del genotipo GSTT1-nulo presentaban un mayor riesgo de desarrollar CaV, en análisis univariante y multivariante ajustado por edad y hábito tabáquico. Esta asociación no se observó en el resto de polimorfismos estudiados: GSTM1, MDR1 C3435T y VEGF A2578C. Estos resultados sugieren que la relevancia de la exposición a sustancias exógenas (contaminantes) como factor de riesgo de esta enfermedad vendrá grandemente influenciada por la carga génica de cada individuo.

Dado que, según la bibliografía determinados polimorfismos genéticos parecen relacionarse con los niveles de contaminantes y condicionan el riesgo de desarrollo de algunas patologías, entre las que se encuentra el CaV, decidimos también explorar si existía alguna asociación entre los diferentes polimorfismos analizados en nuestra población de estudio y los niveles séricos de contaminantes.

Con respecto a MDR1 C3435T y VEGF A2578C, los niveles de los diferentes contaminantes estudiados (OCs, PCBs y PAHs), ya sea analizados individualmente o en grupos, eran similares entre casos y controles independientemente de la variante polimórfica de los individuos, concluyendo por tanto que estos polimorfismos no ejercen ningún efecto sobre los niveles séricos de los contaminantes químicos analizados en nuestra población.

Sin embargo, observamos que el polimorfismo GSTM1 se asociaba a modificaciones relevantes de los niveles séricos de los pesticidas organoclorados (Tabla 35). Así, los niveles séricos totales de plaguicidas organoclorados (TotOCs), de plaguicidas poliaromáticos clorados (TotPCI), de DDT y derivados (TotDDT) y de plaguicidas derivados del hexaclorociclohexano (TotHCH), eran significativamente menores entre los pacientes con CaV que portaban la variable polimórfica GSTM1-nulo, en comparación con los individuos del grupo control con el mismo genotipo ($p < 0,05$ para TotOCs, TotPCI y TotDDT, y $p < 0,01$ para TotHCH). No observamos ese tipo de asociación en relación al polimorfismo GSTM1-positivo, y en ningún caso para los niveles totales de ciclodienos (TotCiclod) o de endosulfán (TotEndos).

La variante polimórfica GSTT1 no ejercía efecto alguno sobre ninguno de los grupos de OCs analizados. Por contra, al combinar ambos polimorfismos, observamos que los niveles séricos de TotOCs, TotPCI y TotDDT eran significativamente menores entre los pacientes con CaV que presentaban de manera conjunta las variantes polimórficas GSTM1-nulo y GSTT1-nulo (doble nulo), en comparación con los individuos del grupo control con el mismo genotipo ($p < 0,05$ en todos los casos), perdiéndose la significación estadística para el caso de los TotHCH, y persistiendo la ausencia de asociación estadística en el caso de la carga total de plaguicidas del grupo de los TotCiclod y del TotEndos (Tabla 35), por lo que se sugiere que el verdadero efecto está causado por la variante GSTM1-nulo, siendo el GSTT1 un elemento atenuante en el análisis.

El CaV es un buen modelo experimental para estudiar la susceptibilidad genética y la interacción gen-medioambiente en la etiología del cáncer (Gu y cols.). Aunque los resultados sean contradictorios, la interacción entre factores medioambientales y genéticos en el desarrollo del CaV parece clara y, de hecho, ha sido reportada por distintos autores en diversos estudios (Kellen y cols. 2007; Cantor y cols. 2010), aunque los resultados son contradictorios (Kopps y cols. 2008). Esto ocurre porque cada individuo posee una combinación única de variantes polimórficas que modifican la susceptibilidad y la respuesta a xenobióticos (ya sean fármacos,

sustancias químicas exógenas y endógenas puede ser modificado por la variación genética heredada en enzimas tales como el citocromo P450 (CYP), acetiltransferasa (NAT) o glutatión S-transferasa (GST). Simic y cols. exploraron el papel de los polimorfismos GSTM1 y GSTT1 en pacientes con tumores de riñón y de vejiga urinaria. Concluyeron que el efecto de los polimorfismos analizados sobre la susceptibilidad a los tipos tumorales estudiados dependía de la exposición a determinadas sustancias químicas (Simic y cols. 2009). No obstante, Villanueva y cols. no observaron interacción alguna entre determinados polimorfismos en los genes NAT2, CYP1A2 y CYP2E1-02 y el consumo de café (Villanueva y cols. 2009). Aunque en ese mismo estudio, los autores observaron un modesto incremento del riesgo de CaV en relación a la cantidad de café consumido (Villanueva y cols. 2009). Al igual que ocurre con el café, se ha reportado una relación entre el tabaco y el polimorfismo GSTM1 con el riesgo de padecer CaV (McGrath y cols. 2006). No obstante, esta relación tampoco está científicamente establecida, habiéndose reportado resultados contradictorios. Así, Golka y cols. no observaron esa relación en un estudio con 293 pacientes con cáncer de vejiga y 176 controles (Golka y cols. 2008). Miller y cols. observaron un importante incremento del riesgo de desarrollo de CaV para los individuos portadores de determinados polimorfismos en los genes GSTM1 y NAT1/2 específicamente entre los pacientes fumadores, estableciendo así una asociación entre los contaminantes presentes en el tabaco y los polimorfismos genéticos analizados en el contexto del riesgo de desarrollo de CaV (Miller y cols. 2001).

Dado que en nuestra población hemos reportado un papel importante como factor de riesgo de CaV de alguno de los polimorfismos analizados (GSTT1), así como un papel relevante de la exposición a algunos contaminantes (hexaclorociclohexanos y fenantreno, particularmente), exploramos la posible interacción de ambas variables en relación al CaV. De tal forma que quisimos saber si el potencial efecto protector de estos compuestos se mantenía aún en presencia del genotipo que se asociaba a modificaciones en los niveles de contaminantes (GSTM1) (Tabla 36). Así, con respecto a los hexaclorociclohexanos que aparecían como un factor protector de CaV (apartados 5 y 8 respectivamente de este capítulo

de Resultados y Discusión de la presente Tesis Doctoral), decidimos realizar análisis estadísticos en los que se tuviera en cuenta el papel de los polimorfismos sobre los niveles séricos de pesticidas, En análisis multivariante ajustado por las mismas variables y añadiendo GSTM1 como variable añadida, observamos que el hábito tabáquico se seguía manteniendo como un factor de riesgo claro de CaV (aunque con menor significación, $p = 0,011$), y que el consumo de café aparecía como factor de riesgo asociado. Tal y como habíamos descrito anteriormente, el polimorfismo GSTM1 no aparece como factor de riesgo de CaV en nuestra población, pero hemos de destacar que los niveles séricos totales de HCHs no aparecían ahora como factor protector para el desarrollo de CaV (Tabla 36).

De forma similar, y aunque este polimorfismo no parecía modificar los niveles séricos de los PAHs, realizamos un análisis multivariante con las mismas variables pero incluyendo al fenantreno, (recordemos que este compuesto se mostró como factor protector de CaV). Y, de nuevo, cuando se analizaba en presencia del polimorfismo GSTM1, desaparecía el efecto protector de ese contaminante (datos no mostrados). De esta forma podemos concluir que en nuestro trabajo, con respecto a factores ambientales, solo el consumo de café con cafeína, y especialmente el hábito tabáquico, pueden considerarse como factores de riesgo asociados al CaV, y que, con respecto a factores genéticos, sólo el polimorfismo GSTT1 nulo parece relacionarse con un mayor riesgo de esta patología.

En otras patologías tumorales se ha estudiado esta interacción ambiente-carga génica. Así, McCready y cols. (2004) analizaron los niveles de pesticidas organoclorados y las variaciones genóticas de genes relacionados con el metabolismo (entre los que estaba GST) en tejido mamario, en relación al riesgo de cáncer de mama. Observaron que la presencia del polimorfismo GSTM1-nulo incrementaba ligeramente el riesgo de desarrollo de cáncer de mama, mientras que concluyeron que la exposición a pesticidas no incrementaba el riesgo de desarrollo de patología mamaria entre los diferentes subgrupos de pacientes portadores de las diferentes variables genóticas (McCready y cols. 2004). Observaron diferencias

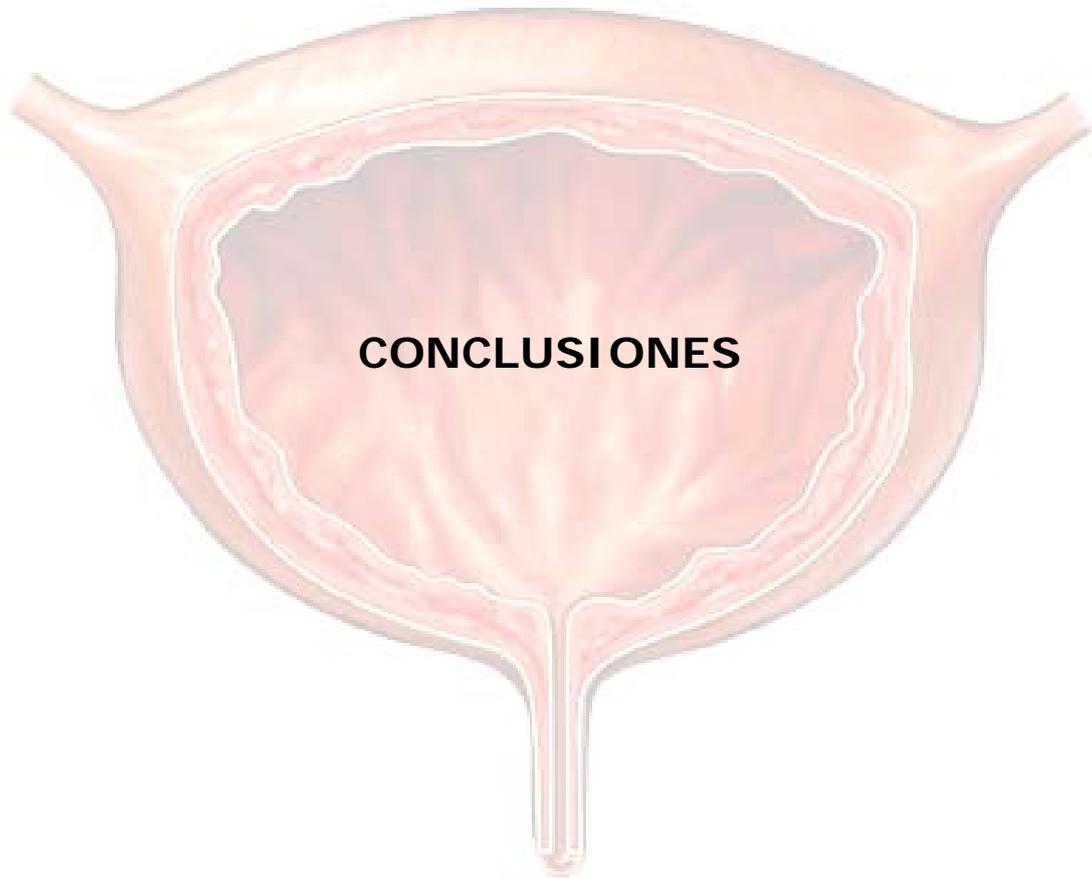
Tabla 36. Factores independientes de riesgo de sufrir CaV en análisis multivariante

Variable	RR	IC95%	p
Edad	1,025	0,993-1,058	0,121
IMC	0,986	0,892-1,090	0,783
Antecedentes familiares			0,999
Consumo de café	2,955	1,007-7,238	0,018
Profesión (chófer)	1,349	0,369-4,926	0,650
Fumador	3,859	1,370-10,87	0,011
Total HCHs	0,928	0,829-1,038	0,192
GSTM1 nulo	1,408	0,547-3,623	0,478

Abreviaturas: HCH, hexaclorociclohexano; RR, riesgo relativo; IMC, índice de masa corporal; GSTM1, glutatión-S-transferasa mu 1.

significativas de los niveles de HCH entre los individuos en función de la dotación genética que tuvieran, así los sujetos GSTM1-nulo presentaban mayores niveles del pesticida y el incremento de los niveles de HCH se asociaba a un menor riesgo de sufrir cáncer de mama solo en aquellas pacientes portadoras de la variante GSTM1-positiva, mientras que el riesgo aumentaba conforme aumentaban los niveles de HCH en el subgrupo de pacientes GSTM1-nulo (McCready y cols. 2004). Por el contrario, otros autores no reportan asociación entre los niveles de DDT medido en cordón umbilical y el genotipo GSTM1 (Morales y cols. 2008). El papel que este tipo de polimorfismos pueda desempeñar en relación a sustancias químicas, no solo queda asociado a los pesticidas organoclorados. Singh y cols. mostraron que el genotipo GSTM1 podía estar relacionado con las diferencias inter-individuales observadas respecto al daño al ADN causado por la interacción mediambiente-genética presente en individuos laboralmente expuestos a pesticidas de tipo organofosforados (Singh y cols. 2011). Sin embargo, otros estudios no han reportado este tipo de asociaciones en relación a las mismas sustancias (Lucero y cols. 2000).

Desde el momento en que las frecuencias alélicas y genotípicas de los distintos polimorfismos varían según la población que se esté estudiando, y teniendo en cuenta que los niveles de exposición a sustancias químicas es diferente en función de la región analizada, es difícil encontrar resultados reproducibles entre los diferentes estudios, máxime si se tiene en cuenta que el momento en que un estudio se realiza condiciona los niveles de exposición a contaminantes persistentes a nivel medioambiental (como es el caso de los pesticidas organoclorados). En nuestro caso y en la población estudiada en esta Tesis Doctoral, hemos observado que los niveles de pesticidas organoclorados de tipo DDT y HCH eran significativamente menores entre los casos portadores de la variable genotípica GSTM1-nulo, en comparación con los controles con el mismo genotipo. Según la bibliografía disponible, esta es la primera vez que se reporta este tipo de asociaciones genético-medioambientales en el contexto del CaV. Se necesitan estudios ulteriores en los que se tenga en cuenta otros genes más importantes en la metabolización de este tipo de sustancias (CYPs). En cualquier caso, los análisis multivariante realizados en el marco de la presente Tesis Doctoral muestran que el consumo de tabaco y en menor medida el consumo de café, parecen ser los principales factores de riesgo para el desarrollo de CaV en nuestra población.



- 1) En la carcinogénesis del cáncer de vejiga, determinados factores ambientales, sociodemográficos, y dietéticos parecen ser muy relevantes:
 - a. La dedicación a determinadas profesiones parece ser un factor de riesgo muy importante para el cáncer vesical. Entre ellas, la profesión de chófer parece ser la más relevante.
 - b. El hábito tabáquico es sin duda el factor de riesgo más importante en el desarrollo de cáncer vesical, influyendo tanto el tiempo como la intensidad del hábito tóxico.
 - c. La ingesta de de café con cafeína aparece como un factor de riesgo importante para el cáncer vesical, incluso en análisis multivariantes donde se ajustó con el hábito tabáquico.
- 2) En la presente Tesis Doctoral, los niveles séricos de IGF-I no fueron un factor de riesgo asociado al cáncer de vejiga. No obstante, dado que se observaron diferencias significativas en la distribución de esta variable en relación a otras, y debido a que los niveles de IGF-I pueden ser modulados por distintos factores ambientales (dieta y exposición a algunos contaminantes como los pesticidas organoclorados), el papel de este factor de crecimiento en relación al cáncer vesical no puede ser descartado categóricamente.
- 3) El papel de los contaminantes tóxicos persistentes en el cáncer vesical ha mostrado resultados paradójicos:
 - a. El papel de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) es controvertido a la vista de los resultados expuestos. El fenantreno fue el único PAH que apareció significativamente regulado, siendo mayores los niveles en suero entre los controles. En análisis multivariante, el fenantreno apareció como un factor protector frente al cáncer de vejiga, manteniéndose el hábito tabáquico como único factor de riesgo.
 - b. Los plaguicidas organoclorados y bifenilos policlorados parecen no contribuir a la modificación del riesgo de desarrollar cáncer vesical.
- 4) Respecto al componente genético en el desarrollo del cáncer vesical, aquellos pacientes con antecedentes de familiares en primer grado afectos de la misma

patología presentan significativamente mayor riesgo de desarrollo de este tipo de tumor.

- 5) Determinados polimorfismos genéticos, sobre todo relacionados con el metabolismo de xenobióticos, parecen tener un importante papel en la modificación del riesgo del cáncer vesical. Así, los pacientes con el genotipo GSTT1-nulo tienen un mayor riesgo de sufrir esta patología. En análisis multivariante, el fenantreno pierde su papel protector cuando se incluye el polimorfismo GSTT1 como covariable.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS

- Aben KK, Witjes JA, Schoenberg MP, Hulsbergen-van de Kaa C, Verbeek AL and Kiemeny LA (2002). "Familial aggregation of urothelial cell carcinoma." Int J Cancer **98**(2): 274-278.
- Adami H-O, Hunter DJ and Trichopoulos D (2008). Textbook of cancer epidemiology. Oxford ; New York, Oxford University Press.
- Agudo A, Goni F, Etxeandia A, Vives A, Millan E, Lopez R, Amiano P, Ardanaz E, Barricarte A, Chirlaque MD, Dorronsoro M, Jakszyn P, Larranaga N, Martinez C, Navarro C, Rodriguez L, Sanchez MJ, Tormo MJ and Gonzalez CA (2009). "Polychlorinated biphenyls in Spanish adults: determinants of serum concentrations." Environ Res **109**(5): 620-628.
- Ahlborg UG (1993). "Dioxin's effects." Science **261**(5117): 13.
- Alberg AJ, Kouzis A, Genkinger JM, Gallicchio L, Burke AE, Hoffman SC, Diener-West M, Helzlsouer KJ and Comstock GW (2007). "A prospective cohort study of bladder cancer risk in relation to active cigarette smoking and household exposure to secondhand cigarette smoke." Am J Epidemiol **165**(6): 660-666.
- Alexandrov K, Cascorbi I, Rojas M, Bouvier G, Kriek E and Bartsch H (2002). "CYP1A1 and GSTM1 genotypes affect benzo[a]pyrene DNA adducts in smokers' lung: comparison with aromatic/hydrophobic adduct formation." Carcinogenesis **23**(12): 1969-1977.
- Amira N, Mourah S, Rozet F, Teillac P, Fiet J, Aubin P, Cortesse A, Desgrandchamps F, Le Duc A, Cussenot O and Soliman H (2002). "Non-invasive molecular detection of bladder cancer recurrence." Int J Cancer **101**(3): 293-297.
- Andrew AS, Nelson HH, Kelsey KT, Moore JH, Meng AC, Casella DP, Tosteson TD, Schned AR and Karagas MR (2006). "Concordance of multiple analytical approaches demonstrates a complex relationship between DNA repair gene SNPs, smoking and bladder cancer susceptibility." Carcinogenesis **27**(5): 1030-1037.
- Angsubhakorn S, Bhamarapravati N, Pradermwong A, Im-Emgamol N and Sahaphong S (1989). "Minimal dose and time protection by lindane (gamma-isomer of 1,2,3,4,5,6 hexachlorocyclohexane) against liver tumors induced by aflatoxin B1." Int J Cancer **43**(3): 531-534.
- Apostoli P, Magoni M, Bergonzi R, Carasi S, Indelicato A, Scarcella C and Donato F (2005). "Assessment of reference values for polychlorinated biphenyl concentration in human blood." Chemosphere **61**(3): 413-421.
- Armstrong B, Hutchinson E, Unwin J and Fletcher T (2004). "Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review and meta-analysis." Environ Health Perspect **112**(9): 970-978.
- Armstrong BG and Gibbs G (2009). "Exposure-response relationship between lung cancer and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)." Occup Environ Med **66**(11): 740-746.
- Arsenault PS and Gerbie AB (1986). "Vulvovaginitis in the preadolescent girl." Pediatr Ann **15**(8): 577-579, 583-575.
- ATSDR (1995). "Toxicological profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons." Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Augustine A, Hebert JR, Kabat GC and Wynder EL (1988). "Bladder cancer in relation to cigarette smoking." Cancer Res **48**(15): 4405-4408.

- Augustsson K, Skog K, Jagerstad M, Dickman PW and Steineck G (1999). "Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder, and kidney: a population-based study." Lancet **353**(9154): 703-707.
- Aurrekoetxea Agirre JJ, Zubero MB, Jimenez Garcia C, Goni Irigoyen F, Cambra Contin K, Alonso Fustel E and Cadinanos Diaz-Tejeiro MC (2011). "[Exposure to lindane, other pesticides and organochlorines in the general population Barakaldo, Spain]." Rev Esp Salud Publica **85**(2): 189-204.
- Awasthi YC, Sharma R and Singhal SS (1994). "Human glutathione S-transferases." Int J Biochem **26**(3): 295-308.
- Bachelet D, Truong T, Verner MA, Arveux P, Kerbrat P, Charlier C, Guihenneuc-Jouyaux C and Guenel P (2011). "Determinants of serum concentrations of 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene and polychlorinated biphenyls among French women in the CECILE study." Environ Res **111**(6): 861-870.
- Baena AV, Abdel-Rahman AG, Díaz Molina C, Farouk Ahmed Allam M, Fernández-Crehuet Navajas R, Requena Tapia MJ, Serrano del Castillo A, Universidad de Córdoba. Departamento de Ciencias Sociosanitarias y Radiología y Medicina Física and Universidad de Córdoba. Departamento de Especialidades Médico-Quirúrgicas (2006). Urinary bladder cancer risk factors in men[recurso electrónico] :] a Spanish case-control study.
- Baibas N, Bamia C, Vassilopoulou E, Sdrolas J, Trichopoulou A and Trichopoulos D (2003). "Dietary and lifestyle factors in relation to plasma insulin-like growth factor I in a general population sample." Eur J Cancer Prev **12**(3): 229-234.
- Baris D, Karagas MR, Verrill C, Johnson A, Andrew AS, Marsit CJ, Schwenn M, Colt JS, Cherala S, Samanic C, Waddell R, Cantor KP, Schned A, Rothman N, Lubin J, Fraumeni JF, Jr., Hoover RN, Kelsey KT and Silverman DT (2009). "A case-control study of smoking and bladder cancer risk: emergent patterns over time." J Natl Cancer Inst **101**(22): 1553-1561.
- Barker DJ (2003). "The developmental origins of adult disease." Eur J Epidemiol **18**(8): 733-736.
- Batty GD, Shipley MJ, Gunnell D, Huxley R, Kivimaki M, Woodward M, Lee CM and Smith GD (2009). "Height, wealth, and health: an overview with new data from three longitudinal studies." Econ Hum Biol **7**(2): 137-152.
- Baxter RC, Bryson JM and Turtle JR (1980). "Somatogenic receptors of rat liver: regulation by insulin." Endocrinology **107**(4): 1176-1181.
- Bell DA, Taylor JA, Paulson DF, Robertson CN, Mohler JL and Lucier GW (1993). "Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen-metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) that increases susceptibility to bladder cancer." J Natl Cancer Inst **85**(14): 1159-1164.
- Bencko V, Rames J, Ondrusova M, Plesko I, Jurickova L and Trnovec T (2009). "Human exposure to polyhalogenated hydrocarbons and incidence of selected malignancies - central European experience." Neoplasma **56**(4): 353-357.
- Berrino F, De Angelis R, Sant M, Rosso S, Bielska-Lasota M, Coebergh JW and Santaquilani M (2007). "Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EURO CARE-4 study." Lancet Oncol **8**(9): 773-783.
- Bjerregaard BK, Raaschou-Nielsen O, Sorensen M, Frederiksen K, Christensen J, Tjonneland A, Overvad K, Chapelon FC, Nagel G, Chang-Claude J, Bergmann MM, Boeing H, Trichopoulos D, Trichopoulou A, Oikonomou E, Berrino F, Palli D, Tumino R, Vineis P, Panico S, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, Kiemenev L, Gram IT, Braaten T, Lund E, Gonzalez CA, Berglund G, Allen N, Roddam A, Bingham S and Riboli E (2006). "Tobacco smoke and bladder cancer--in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition." Int J Cancer **119**(10): 2412-2416.

- Boada LD, Lara PC, Alvarez-Leon EE, Losada A, Zumbado ML, Liminana-Canal JM, Apolinario R, Serra-Majem L and Luzardo OP (2007). "Serum levels of insulin-like growth factor-I in relation to organochlorine pesticides exposure." Growth Horm IGF Res **17**(6): 506-511.
- Boffetta P and Silverman DT (2001). "A meta-analysis of bladder cancer and diesel exhaust exposure." Epidemiology **12**(1): 125-130.
- Bonassi S, Merlo F, Pearce N and Puntoni R (1989). "Bladder cancer and occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons." Int J Cancer **44**(4): 648-651.
- Bostrom CE, Gerde P, Hanberg A, Jernstrom B, Johansson C, Kyrklund T, Rannug A, Tornqvist M, Victorin K and Westerholm R (2002). "Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air." Environ Health Perspect **110 Suppl 3**: 451-488.
- Brabant G and Wallaschofski H (2007). "Normal levels of serum IGF-I: determinants and validity of current reference ranges." Pituitary **10**(2): 129-133.
- Brennan P, Bogillot O, Cordier S, Greiser E, Schill W, Vineis P, Lopez-Abente G, Tzonou A, Chang-Claude J, Bolm-Audorff U, Jockel KH, Donato F, Serra C, Wahrendorf J, Hours M, T'Mannetje A, Kogevinas M and Boffetta P (2000). "Cigarette smoking and bladder cancer in men: a pooled analysis of 11 case-control studies." Int J Cancer **86**(2): 289-294.
- Brennan P, Bogillot O, Greiser E, Chang-Claude J, Wahrendorf J, Cordier S, Jockel KH, Lopez-Abente G, Tzonou A, Vineis P, Donato F, Hours M, Serra C, Bolm-Audorff U, Schill W, Kogevinas M and Boffetta P (2001). "The contribution of cigarette smoking to bladder cancer in women (pooled European data)." Cancer Causes Control **12**(5): 411-417.
- Bruemmer B, White E, Vaughan TL, Cheney CL (1997). "Fluid intake and the incidence of bladder cancer among middle-aged men and women in a three-county area of western Washington." Nutr Cancer **29**(2):163-8.
- Brinkman M, Buntinx F, Muls E and Zeegers MP (2006). "Use of selenium in chemoprevention of bladder cancer." Lancet Oncol **7**(9): 766-774.
- Broberg K, Bjork J, Paulsson K, Hoglund M and Albin M (2005). "Constitutional short telomeres are strong genetic susceptibility markers for bladder cancer." Carcinogenesis **26**(7): 1263-1271.
- Brooks GT (1986). "Insecticide metabolism and selective toxicity." Xenobiotica **16**(10-11): 989-1002.
- Burch JD, Rohan TE, Howe GR, Risch HA, Hill GB, Steele R and Miller AB (1989). "Risk of bladder cancer by source and type of tobacco exposure: a case-control study." Int J Cancer **44**(4): 622-628.
- Burmeister LF (1981). "Cancer mortality in Iowa farmers, 1971-78." J Natl Cancer Inst **66**(3): 461-464.
- Burns JS, Williams PL, Sergeev O, Korricks S, Lee MM, Revich B, Altshul L, Del Prato JT, Humblet O, Patterson DG, Jr., Turner WE, Needham LL, Starovoytov M and Hauser R (2011). "Serum dioxins and polychlorinated biphenyls are associated with growth among Russian boys." Pediatrics **127**(1): e59-68.
- Burns JS, Williams PL, Sergeev O, Korricks S, Lee MM, Revich B, Altshul L, Patterson DG, Jr., Turner WE, Needham LL, Saharov I and Hauser R (2009). "Predictors of serum dioxins and PCBs among peripubertal Russian boys." Environ Health Perspect **117**(10): 1593-1599.
- Cabidoche YM, Achard R, Cattani P, Clermont-Dauphin C, Massat F and Sansoulet J (2009). "Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: a simple leaching model accounts for current residue." Environ Pollut **157**(5): 1697-1705.
- Calvo-Revuelta C, De la Fuente-Santiago E and Rodríguez-Vázquez JA (1999). "Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in emissions from coal-fired

- power plants: the influence of operation parameters." Environmental Technology **30**: 61-68.
- Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K and Thun MJ (2003). "Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults." N Engl J Med **348**(17): 1625-1638.
- Canonici A, Steelant W, Rigot V, Khomitch-Baud A, Boutaghou-Cherid H, Bruyneel E, Van Roy F, Garrouste F, Pommier G and Andre F (2008). "Insulin-like growth factor-I receptor, E-cadherin and alpha v integrin form a dynamic complex under the control of alpha-catenin." Int J Cancer **122**(3): 572-582.
- Cantor KP, Villanueva CM, Silverman DT, Figueroa JD, Real FX, Garcia-Closas M, Malats N, Chanock S, Yeager M, Tardon A, Garcia-Closas R, Serra C, Carrato A, Castano-Vinyals G, Samanic C, Rothman N and Kogevinas M (2010). "Polymorphisms in GSTT1, GSTZ1, and CYP2E1, disinfection by-products, and risk of bladder cancer in Spain." Environ Health Perspect **118**(11): 1545-1550.
- Carreon T, Ruder AM, Schulte PA, Hayes RB, Rothman N, Waters M, Grant DJ, Boissy R, Bell DA, Kadlubar FF, Hemstreet GP, 3rd, Yin S and LeMasters GK (2006). "NAT2 slow acetylation and bladder cancer in workers exposed to benzidine." Int J Cancer **118**(1): 161-168.
- Carson R, Darling L and Darling L (1962). Silent spring. Boston Cambridge, Mass., Houghton Mifflin ; Riverside Press.
- Case RA, Hosker ME, McDonald DB and Pearson JT (1993). "Tumours of the urinary bladder in workmen engaged in the manufacture and use of certain dyestuff intermediates in the British chemical industry. Part I. The role of aniline, benzidine, alpha-naphthylamine, and beta-naphthylamine. 1954." Br J Ind Med **50**(5): 389-411.
- Cerna M, Maly M, Grabic R, Batariova A, Smid J and Benes B (2008). "Serum concentrations of indicator PCB congeners in the Czech adult population." Chemosphere **72**(8): 1124-1131.
- Clapp RW, Jacobs MM and Loechler EL (2008). "Environmental and occupational causes of cancer: new evidence 2005-2007." Rev Environ Health **23**(1): 1-37.
- Clavel J, Mandereau L, Limasset JC, Hemon D and Cordier S (1994). "Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and the risk of bladder cancer: a French case-control study." Int J Epidemiol **23**(6): 1145-1153.
- Clayson DB, Fishbein L and Cohen SM (1995). "Effects of stones and other physical factors on the induction of rodent bladder cancer." Food Chem Toxicol **33**(9): 771-784.
- Coats JR (1990). "Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides." Environ Health Perspect **87**: 255-262.
- Colli J, Lee BR and Thomas R (2011). "Population densities in relation to bladder cancer mortality rates in America from 1950 to 1994." Int Urol Nephrol.
- Commission-for-Environmental-Cooperation (2006). "North American Regional Action Plan (NARAP) on lindane and other hexachlorocyclohexane (HCH) isomers." http://www.cec.org/files/PDF/POLLUTANTS/LindaneNARAP-Nov06_en.pdf.
- Crowe FL, Key TJ, Allen NE, Appleby PN, Overvad K, Gronbaek H, Tjonneland A, Halkjaer J, Dossus L, Boeing H, Kroger J, Trichopoulou A, Zylis D, Trichopoulos D, Boutron-Ruault MC, de Lauzon-Guillain B, Clavel-Chapelon F, Palli D, Berrino F, Panico S, Tumino R, Sacerdote C, Bueno-de-Mesquita HB, van Gils CH, Peeters PH, Gram IT, Rodriguez L, Jakszyn P, Molina-Montes E, Navarro C, Barricarte A, Larranaga N, Khaw KT, Rodwell S, Rinaldi S, Slimani N, Norat T, Gallo V, Riboli E and Kaaks R (2011). "A cross-sectional analysis of the associations between adult height, BMI and serum concentrations of IGF-I and IGFBP-1 -2 and -3 in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)." Ann Hum Biol **38**(2): 194-202.
- Currie CJ, Poole CD and Gale EA (2009). "The influence of glucose-lowering therapies on cancer risk in type 2 diabetes." Diabetologia **52**(9): 1766-1777.

- Charlier CJ and Plomteux GJ (2002). "Determination of organochlorine pesticide residues in the blood of healthy individuals." Clin Chem Lab Med **40**(4): 361-364.
- Chen CH, Shun CT, Huang KH, Huang CY, Tsai YC, Yu HJ and Pu YS (2007). "Stopping smoking might reduce tumour recurrence in nonmuscle-invasive bladder cancer." BJU Int **100**(2): 281-286; discussion 286.
- Chen JG (1990). "[A cohort study on the cancer experience among workers exposed to benzidine-derived dyes in Shanghai leather-tanning industry]." Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi **24**(6): 328-331.
- Chen W, Wang S, Tian T, Bai J, Hu Z, Xu Y, Dong J, Chen F, Wang X and Shen H (2009). "Phenotypes and genotypes of insulin-like growth factor 1, IGF-binding protein-3 and cancer risk: evidence from 96 studies." Eur J Hum Genet **17**(12): 1668-1675.
- Choi H, Jedrychowski W, Spengler J, Camann DE, Whyatt RM, Rauh V, Tsai WY and Perera FP (2006). "International studies of prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and fetal growth." Environ Health Perspect **114**(11): 1744-1750.
- Daisey JM, Cheney JL and Liroy PJ (1986). "Profiles of organic particulate emissions from air pollution sources: status and needs for receptor source apportionment modeling." Journal of the Air Pollution Control Association **36**: 17-33.
- De Felip E, Abballe A, Casalino F, di Domenico A, Domenici P, Iacovella N, Ingelido AM, Pretolani E and Spagnesi M (2008). "Serum levels of PCDDs, PCDFs and PCBs in non-occupationally exposed population groups living near two incineration plants in Tuscany, Italy." Chemosphere **72**(1): 25-33.
- De Stefani E, Boffetta P, Deneo-Pellegrini H, Correa P, Ronco AL, Brennan P, Ferro G, Acosta G, Mendilaharsu M (2007). "Non-alcoholic beverages and risk of bladder cancer in Uruguay." BMC Cancer **29**;7:57.
- Deakin M, Elder J, Hendrickse C, Peckham D, Baldwin D, Pantin C, Wild N, Leopard P, Bell DA, Jones P, Duncan H, Brannigan K, Alldersea J, Fryer AA and Strange RC (1996). "Glutathione S-transferase GSTT1 genotypes and susceptibility to cancer: studies of interactions with GSTM1 in lung, oral, gastric and colorectal cancers." Carcinogenesis **17**(4): 881-884.
- Deitz AC, Rothman N, Rebbeck TR, Hayes RB, Chow WH, Zheng W, Hein DW and Garcia-Closas M (2004). "Impact of misclassification in genotype-exposure interaction studies: example of N-acetyltransferase 2 (NAT2), smoking, and bladder cancer." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **13**(9): 1543-1546.
- Denison MS and Nagy SR (2003). "Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals." Annu Rev Pharmacol Toxicol **43**: 309-334.
- Denison MS, Pandini A, Nagy SR, Baldwin EP and Bonati L (2002). "Ligand binding and activation of the Ah receptor." Chem Biol Interact **141**(1-2): 3-24.
- Derby LE and Jick H (1996). "Acetaminophen and renal and bladder cancer." Epidemiology **7**(4): 358-362.
- Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, Zoeller RT and Gore AC (2009). "Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement." Endocr Rev **30**(4): 293-342.
- Diaz Romero C, Henriquez Sanchez P, Lopez Blanco F, Rodriguez Rodriguez E and Serra Majem L (2002). "[Concentrations of Na, K, Ca, and P in serum from a representative sample of the Canary Islands population]." Nutr Hosp **17**(4): 204-212.
- Doll R, Peto R, Wheatley K, Gray R and Sutherland I (1994). "Mortality in relation to smoking: 40 years' observations on male British doctors." BMJ **309**(6959): 901-911.
- Donato F, Zani C, Magoni M, Gelatti U, Covolo L, Orizio G, Speziani F, Indelicato A, Scarcella C, Bergonzi R and Apostoli P (2008). "Polychlorinated biphenyls and thyroid hormone serum concentrations among people living in a highly polluted area: a cross-sectional population-based study." Environ Res **108**(3): 380-386.
- Douben Peter ET (2003). "PAHs: An Ecotoxicological Perspective."

- Dunn SE, Kari FW, French J, Leininger JR, Travlos G, Wilson R and Barrett JC (1997). "Dietary restriction reduces insulin-like growth factor I levels, which modulates apoptosis, cell proliferation, and tumor progression in p53-deficient mice." Cancer Res **57**(21): 4667-4672.
- Engel LS, Taioli E, Pfeiffer R, Garcia-Closas M, Marcus PM, Lan Q, Boffetta P, Vineis P, Autrup H, Bell DA, Branch RA, Brockmoller J, Daly AK, Heckbert SR, Kalina I, Kang D, Katoh T, Lafuente A, Lin HJ, Romkes M, Taylor JA and Rothman N (2002). "Pooled analysis and meta-analysis of glutathione S-transferase M1 and bladder cancer: a HuGE review." Am J Epidemiol **156**(2): 95-109.
- Environmental-Protection-Agency (2006). "Addendum to the 2002 Lindane Reregistration Eligibility Decision (RED)." www.epa.gov/oppsrrd1/reds/lindane_red_addendum.pdf.
- Esrig D, Elmajian D, Groshen S, Freeman JA, Stein JP, Chen SC, Nichols PW, Skinner DG, Jones PA and Cote RJ (1994). "Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer." N Engl J Med **331**(19): 1259-1264.
- Fernandez MF, Kiviranta H, Molina-Molina JM, Laine O, Lopez-Espinosa MJ, Vartiainen T and Olea N (2008). "Polychlorinated biphenyls (PCBs) and hydroxy-PCBs in adipose tissue of women in Southeast Spain." Chemosphere **71**(6): 1196-1205.
- Fernando SA and Sandler HM (2005). "Organ preservation in muscle-invasive bladder cancer." Oncology (Williston Park) **19**(3): 334-339; discussion 339-340, 345, 349, 350-333.
- Fitzgerald EF, Belanger EE, Gomez MI, Cayo M, McCaffrey RJ, Seegal RF, Jansing RL, Hwang SA and Hicks HE (2008). "Polychlorinated biphenyl exposure and neuropsychological status among older residents of upper Hudson River communities." Environ Health Perspect **116**(2): 209-215.
- Fitzgerald EF, Belanger EE, Gomez MI, Hwang SA, Jansing RL and Hicks HE (2007). "Environmental exposures to polychlorinated biphenyls (PCBs) among older residents of upper Hudson River communities." Environ Res **104**(3): 352-360.
- Fitzgerald EF, Shrestha S, Palmer PM, Wilson LR, Belanger EE, Gomez MI, Cayo MR and Hwang SA (2011). "Polychlorinated biphenyls (PCBs) in indoor air and in serum among older residents of upper Hudson River communities." Chemosphere **85**(2): 225-231.
- Fletcher O, Easton D, Anderson K, Gilham C, Jay M and Peto J (2004). "Lifetime risks of common cancers among retinoblastoma survivors." J Natl Cancer Inst **96**(5): 357-363.
- Fontana L, Weiss EP, Villareal DT, Klein S and Holloszy JO (2008). "Long-term effects of calorie or protein restriction on serum IGF-1 and IGFBP-3 concentration in humans." Aging Cell **7**(5): 681-687.
- Forastiere F, Quercia A, Miceli M, Settimi L, Terenzoni B, Rapiti E, Faustini A, Borgia P, Cavariani F and Perucci CA (1993). "Cancer among farmers in central Italy." Scand J Work Environ Health **19**(6): 382-389.
- Fortuny J, Kogevinas M, Garcia-Closas M, Real FX, Tardon A, Garcia-Closas R, Serra C, Carrato A, Lloreta J, Rothman N, Villanueva C, Dosemeci M, Malats N and Silverman D (2006). "Use of analgesics and nonsteroidal anti-inflammatory drugs, genetic predisposition, and bladder cancer risk in Spain." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **15**(9): 1696-1702.
- Frystyk J, Vestbo E, Skjaerbaek C, Mogensen CE and Orskov H (1995). "Free insulin-like growth factors in human obesity." Metabolism **44**(10 Suppl 4): 37-44.
- Fukuda R, Hirota K, Fan F, Jung YD, Ellis LM and Semenza GL (2002). "Insulin-like growth factor 1 induces hypoxia-inducible factor 1-mediated vascular endothelial growth factor expression, which is dependent on MAP kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling in colon cancer cells." J Biol Chem **277**(41): 38205-38211.
- Gago-Dominguez M, Castela JE, Yuan JM, Yu MC and Ross RK (2001). "Use of permanent hair dyes and bladder-cancer risk." Int J Cancer **91**(4): 575-579.

- Gallagher EJ and LeRoith D "The proliferating role of insulin and insulin-like growth factors in cancer." Trends Endocrinol Metab **21**(10): 610-618.
- Gao J, Chesebrough JW, Cartlidge SA, Ricketts SA, Incognito L, Veldman-Jones M, Blakey DC, Tabrizi M, Jallal B, Trail PA, Coats S, Bosslet K and Chang YS (2011). "Dual IGF-I/II-neutralizing antibody MEDI-573 potently inhibits IGF signaling and tumor growth." Cancer Res **71**(3): 1029-1040.
- Garcia-Closas M, Malats N, Real FX, Welch R, Kogevinas M, Chatterjee N, Pfeiffer R, Silverman D, Dosemeci M, Tardon A, Serra C, Carrato A, Garcia-Closas R, Castano-Vinyals G, Chanock S, Yeager M and Rothman N (2006). "Genetic variation in the nucleotide excision repair pathway and bladder cancer risk." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **15**(3): 536-542.
- Garcia-Closas M, Malats N, Real FX, Yeager M, Welch R, Silverman D, Kogevinas M, Dosemeci M, Figueroa J, Chatterjee N, Tardon A, Serra C, Carrato A, Garcia-Closas R, Murta-Nascimento C, Rothman N and Chanock SJ (2007). "Large-scale evaluation of candidate genes identifies associations between VEGF polymorphisms and bladder cancer risk." PLoS Genet **3**(2): e29.
- Garcia-Closas M, Malats N, Silverman D, Dosemeci M, Kogevinas M, Hein DW, Tardon A, Serra C, Carrato A, Garcia-Closas R, Lloreta J, Castano-Vinyals G, Yeager M, Welch R, Chanock S, Chatterjee N, Wacholder S, Samanic C, Tora M, Fernandez F, Real FX and Rothman N (2005). "NAT2 slow acetylation, GSTM1 null genotype, and risk of bladder cancer: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses." Lancet **366**(9486): 649-659.
- Geoffroy-Perez B and Cordier S (2001). "Fluid consumption and the risk of bladder cancer: results of a multicenter case-control study." Int J Cancer **93**(6): 880-887.
- Giannandrea F, Gandini L, Paoli D, Turci R and Figa-Talamanca I (2011). "Pesticide exposure and serum organochlorine residuals among testicular cancer patients and healthy controls." J Environ Sci Health B **46**(8): 780-787.
- Gillison ML and Shah KV (2003). "Chapter 9: Role of mucosal human papillomavirus in nongenital cancers." J Natl Cancer Inst Monogr(31): 57-65.
- Glynn AW, Granath F, Aune M, Atuma S, Darnerud PO, Bjerselius R, Vainio H and Weiderpass E (2003). "Organochlorines in Swedish women: determinants of serum concentrations." Environ Health Perspect **111**(3): 349-355.
- Golden R and Kimbrough R (2009). "Weight of evidence evaluation of potential human cancer risks from exposure to polychlorinated biphenyls: an update based on studies published since 2003." Crit Rev Toxicol **39**(4): 299-331.
- Goldgar DE, Easton DF, Cannon-Albright LA and Skolnick MH (1994). "Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands." J Natl Cancer Inst **86**(21): 1600-1608.
- Golka K, Schmidt T, Seidel T, Dietrich H, Roemer HC, Lohlein D, Reckwitz T, Sokeland J, Weistenhofer W, Blaszkewicz M and Selinski S (2008). "The influence of polymorphisms of glutathione S-transferases M1 and M3 on the development of human urothelial cancer." J Toxicol Environ Health A **71**(13-14): 881-886.
- Gomez JM, Maravall FJ, Gomez N, Navarro MA, Casamitjana R and Soler J (2003). "Interactions between serum leptin, the insulin-like growth factor-I system, and sex, age, anthropometric and body composition variables in a healthy population randomly selected." Clin Endocrinol (Oxf) **58**(2): 213-219.
- Gonzalez CA, Lopez-Abente G, Errezola M, Escolar A, Riboli E, Izarzugaza I and Nebot M (1989). "Occupation and bladder cancer in Spain: a multi-centre case-control study." Int J Epidemiol **18**(3): 569-577.
- Goodman-Gruen D and Barrett-Connor E (1997). "Epidemiology of insulin-like growth factor-I in elderly men and women. The Rancho Bernardo Study." Am J Epidemiol **145**(11): 970-976.

- Grinspoon S, Clemmons D, Swearingen B and Klibanski A (1995). "Serum insulin-like growth factor-binding protein-3 levels in the diagnosis of acromegaly." J Clin Endocrinol Metab **80**(3): 927-932.
- Gu J, Liang D, Wang Y, Lu C and Wu X (2005). "Effects of N-acetyl transferase 1 and 2 polymorphisms on bladder cancer risk in Caucasians." Mutat Res **581**(1-2): 97-104.
- Gu J and Wu X "Genetic susceptibility to bladder cancer risk and outcome." Per Med **8**(3): 365-374.
- Guarcello V, Stern A and Rizza V (1987). "Fluorescent properties of merocyanine 540 in solutions of sialogangliosides." Biochim Biophys Acta **917**(2): 318-323.
- Guha N, Steenland NK, Merletti F, Altieri A, Cogliano V and Straif K (2010). "Bladder cancer risk in painters: a meta-analysis." Occup Environ Med **67**(8): 568-573.
- Guillette LJ, Jr., Crain DA, Rooney AA and Pickford DB (1995a). "Organization versus activation: the role of endocrine-disrupting contaminants (EDCs) during embryonic development in wildlife." Environ Health Perspect **103 Suppl 7**: 157-164.
- Guillette LJ, Jr., Gross TS, Gross DA, Rooney AA and Percival HF (1995b). "Gonadal steroidogenesis in vitro from juvenile alligators obtained from contaminated or control lakes." Environ Health Perspect **103 Suppl 4**: 31-36.
- Guo B, Che T, Shi B, Guo L, Yin Y, Li L, Wang J, Yan D and Chen Y (2011). "Screening and identification of specific markers for bladder transitional cell carcinoma from urine urothelial cells with suppressive subtractive hybridization and cDNA microarray." Can Urol Assoc J.
- Hahn ME (2002). "Aryl hydrocarbon receptors: diversity and evolution." Chem Biol Interact **141**(1-2): 131-160.
- Harden FA, Toms LM, Paepke O, Ryan JJ and Muller JF (2007). "Evaluation of age, gender and regional concentration differences for dioxin-like chemicals in the Australian population." Chemosphere **67**(9): S318-324.
- Hartge P, Harvey EB, Linehan WM, Silverman DT, Sullivan JW, Hoover RN and Fraumeni JF, Jr. (1990). "Unexplained excess risk of bladder cancer in men." J Natl Cancer Inst **82**(20): 1636-1640.
- Hartge P, Hoover R, Altman R, Austin DF, Cantor KP, Child MA, Key CR, Mason TJ, Marrett LD, Myers MH, Narayana AS, Silverman DT, Sullivan JW, Swanson GM, Thomas DB and West DW (1982). "Use of hair dyes and risk of bladder cancer." Cancer Res **42**(11): 4784-4787.
- Hartge P, Silverman D, Hoover R, Schairer C, Altman R, Austin D, Cantor K, Child M, Key C, Marrett LD and y cols. (1987). "Changing cigarette habits and bladder cancer risk: a case-control study." J Natl Cancer Inst **78**(6): 1119-1125.
- Hayes JD and Strange RC (2000). "Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences." Pharmacology **61**(3): 154-166.
- Headrick ML, Hollinger K, Lovell RA and Matheson JC (1999). "PBBs, PCBs, and dioxins in food animals, their public health implications." Vet Clin North Am Food Anim Pract **15**(1): 109-131, ix-x.
- Hecht SS, Berg JZ and Hochalter JB (2009). "Preferential glutathione conjugation of a reverse diol epoxide compared to a bay region diol epoxide of phenanthrene in human hepatocytes: relevance to molecular epidemiology studies of glutathione-s-transferase polymorphisms and cancer." Chem Res Toxicol **22**(3): 426-432.
- Hecht SS, Carmella SG, Yoder A, Chen M, Li ZZ, Le C, Dayton R, Jensen J and Hatsukami DK (2006). "Comparison of polymorphisms in genes involved in polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism with urinary phenanthrene metabolite ratios in smokers." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **15**(10): 1805-1811.
- Hecht SS, Chen M, Yoder A, Jensen J, Hatsukami D, Le C and Carmella SG (2005). "Longitudinal study of urinary phenanthrene metabolite ratios: effect of smoking on the diol epoxide pathway." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **14**(12): 2969-2974.

- Hein DW (2002). "Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis." *Mutat Res* **506-507**: 65-77.
- Hemkens LG, Grouven U, Bender R, Gunster C, Gutschmidt S, Selke GW and Sawicki PT (2009). "Risk of malignancies in patients with diabetes treated with human insulin or insulin analogues: a cohort study." *Diabetologia* **52**(9): 1732-1744.
- Henley SJ and Thun MJ (2001). "Use of permanent hair dyes and bladder-cancer risk." *Int J Cancer* **94**(6): 903-906.
- Henriquez-Hernandez LA, Luzardo OP, Almeida-Gonzalez M, Alvarez-Leon EE, Serra-Majem L, Zumbado M and Boada LD "Background levels of polychlorinated biphenyls in the population of the Canary Islands (Spain)." *Environ Res* **111**(1): 10-16.
- Henriquez-Hernandez LA, Murias-Rosales A, Hernandez Gonzalez A, Cabrera De Leon A, Diaz-Chico BN, Mori De Santiago M and Fernandez Perez L (2009). "Gene polymorphisms in TYMS, MTHFR, p53 and MDR1 as risk factors for breast cancer: a case-control study." *Oncol Rep* **22**(6): 1425-1433.
- Henriquez-Hernandez LA, Navarro P, Luzardo OP, Alvarez-Leon EE, Boada LD, Zumbado M, Pestano J, Suarez JR, Chesa N, Almeida M and Valeron PF (2011b). "Polymorphisms of glutathione S-transferase mu and theta, MDR1 and VEGF genes as risk factors of bladder cancer: A case-control study." *Urol Oncol*.
- Heron-Milhavet L and LeRoith D (2002). "Insulin-like growth factor I induces MDM2-dependent degradation of p53 via the p38 MAPK pathway in response to DNA damage." *J Biol Chem* **277**(18): 15600-15606.
- Herrick RF, Meeker JD, Hauser R, Altshul L and Weymouth GA (2007). "Serum PCB levels and congener profiles among US construction workers." *Environ Health* **6**: 25.
- Hickey JJ and Anderson DW (1968). "Chlorinated hydrocarbons and eggshell changes in raptorial and fish-eating birds." *Science* **162**(850): 271-273.
- Higuchi Y, Saeki N, Iuchi T, Uchino Y, Tatsuno I, Uchida D, Tanaka T, Noguchi Y, Nakamura S, Yasuda T, Yamaura A, Sunami K, Oka Y and Uozumi A (2000). "Incidence of malignant tumors in patients with acromegaly." *Endocr J* **47** **Suppl**: S57-60.
- Hoekstra PF, O'Hara TM, Backus SM, Hanns C and Muir DC (2005). "Concentrations of persistent organochlorine contaminants in bowhead whale tissues and other biota from northern Alaska: implications for human exposure from a subsistence diet." *Environ Res* **98**(3): 329-340.
- Hoffman D, Masuda Y and Wynder EL (1969). "Alpha-naphthylamine and beta-naphthylamine in cigarette smoke." *Nature* **221**(5177): 255-256.
- Holick CN, Giovannucci EL, Stampfer MJ and Michaud DS (2007). "Prospective study of body mass index, height, physical activity and incidence of bladder cancer in US men and women." *Int J Cancer* **120**(1): 140-146.
- Holmes MD, Pollak MN and Hankinson SE (2002). "Lifestyle correlates of plasma insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 3 concentrations." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **11**(9): 862-867.
- Huang YF, Shen MR, Hsu KF, Cheng YM and Chou CY (2008). "Clinical implications of insulin-like growth factor 1 system in early-stage vesical cancer." *Br J Cancer* **99**(7): 1096-1102.
- Hursting SD, Perkins SN, Lavigne JA, Beltran L, Haines DC, Hill HL, Alvord WG, Barrett JC and DiGiovanni J (2009). "Urothelial overexpression of insulin-like growth factor-1 increases susceptibility to p-cresidine-induced bladder carcinogenesis in transgenic mice." *Mol Carcinog* **48**(8): 671-677.
- Huwe JK (2002). "Dioxins in food: a modern agricultural perspective." *J Agric Food Chem* **50**(7): 1739-1750.
- IARC (1987). "Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Supplement 7." <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/suppl7/index.php>.
- IARC (1993). "Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 58." <http://www.inchem.org/documents/iarc/vol58/mono58-2.html>.

- IARC (2002). "IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans." <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82.pdf>.
- Institute of Medicine (U.S.). Committee on the Implications of Dioxin in the Food Supply. and Institute of Medicine (U.S.) (2003). Dioxins and dioxin-like compounds in the food supply : strategies to decrease exposure. Washington, D.C., National Academies Press.
- Itoh H, Iwasaki M, Hanaoka T, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, Nishimura H, Kusama R and Tsugane S (2009). "Serum organochlorines and breast cancer risk in Japanese women: a case-control study." Cancer Causes Control **20**(5): 567-580.
- Iwasaki M, Inoue M, Sasazuki S, Kurahashi N, Itoh H, Usuda M and Tsugane S (2008). "Plasma organochlorine levels and subsequent risk of breast cancer among Japanese women: a nested case-control study." Sci Total Environ **402**(2-3): 176-183.
- Jaga K and Brosius D (1999). "Pesticide exposure: human cancers on the horizon." Rev Environ Health **14**(1): 39-50.
- Jakszyn P, Goni F, Etzeandia A, Vives A, Millan E, Lopez R, Amiano P, Ardanaz E, Barricarte A, Chirlaque MD, Dorronsoro M, Larranaga N, Martinez C, Navarro C, Rodriguez L, Sanchez MJ, Tormo MJ, Gonzalez CA and Agudo A (2009). "Serum levels of organochlorine pesticides in healthy adults from five regions of Spain." Chemosphere **76**(11): 1518-1524.
- Janik F and Wolf HU (1992). "The Ca(2+)-transport-ATPase of human erythrocytes as an in vitro toxicity test system--acute effects of some chlorinated compounds." J Appl Toxicol **12**(5): 351-358.
- Jedrychowski W, Perera FP, Tang D, Stigter L, Mroz E, Flak E, Spengler J, Budzyn-Mrozek D, Kaim I and Jacek R (2012). "Impact of barbecued meat consumed in pregnancy on birth outcomes accounting for personal prenatal exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons: Birth cohort study in Poland." Nutrition **28**(4): 372-377.
- Jiang X, Yuan JM, Skipper PL, Tannenbaum SR and Yu MC (2007). "Environmental tobacco smoke and bladder cancer risk in never smokers of Los Angeles County." Cancer Res **67**(15): 7540-7545.
- Jin Q, Hemminki K, Enquist K, Lenner P, Grzybowska E, Klaes R, Henriksson R, Chen B, Pamula J, Pekala W, Zientek H, Rogozinska-Szczepka J, Utracka-Hutka B, Hallmans G and Forsti A (2005). "Vascular endothelial growth factor polymorphisms in relation to breast cancer development and prognosis." Clin Cancer Res **11**(10): 3647-3653.
- Jones RA, Campbell CI, Wood GA, Petrik JJ and Moorehead RA (2009). "Reversibility and recurrence of IGF-IR-induced mammary tumors." Oncogene **28**(21): 2152-2162.
- Juul A, Bang P, Hertel NT, Main K, Dalgaard P, Jorgensen K, Muller J, Hall K and Skakkebaek NE (1994). "Serum insulin-like growth factor-I in 1030 healthy children, adolescents, and adults: relation to age, sex, stage of puberty, testicular size, and body mass index." J Clin Endocrinol Metab **78**(3): 744-752.
- Kabat GC, Dieck GS and Wynder EL (1986). "Bladder cancer in nonsmokers." Cancer **57**(2): 362-367.
- Kakizoe T, Fujita J, Murase T, Matsumoto K and Kishi K (1980). "Transitional cell carcinoma of the bladder in patients with renal pelvic and ureteral cancer." J Urol **124**(1): 17-19.
- Kang JH, Park H, Chang YS and Choi JW (2008). "Distribution of organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human serum from urban areas in Korea." Chemosphere **73**(10): 1625-1631.
- Kausch I, Doehn C and Jocham D (2006). "Recent improvements in the detection and treatment of nonmuscle-invasive bladder cancer." Expert Rev Anticancer Ther **6**(9): 1301-1311.
- Kellen E, Zeegers M, Paulussen A, Vlietinck R, Vlem EV, Veulemans H and Buntinx F (2007). "Does occupational exposure to PAHs, diesel and aromatic amines interact with smoking and metabolic genetic polymorphisms to increase the risk on bladder

- cancer?; The Belgian case control study on bladder cancer risk." Cancer Lett **245**(1-2): 51-60.
- Kiemeny LA and Schoenberg M (1996). "Familial transitional cell carcinoma." J Urol **156**(3): 867-872.
- Kim EJ, Jeong P, Quan C, Kim J, Bae SC, Yoon SJ, Kang JW, Lee SC, Jun Wee J and Kim WJ (2005). "Genotypes of TNF-alpha, VEGF, hOGG1, GSTM1, and GSTT1: useful determinants for clinical outcome of bladder cancer." Urology **65**(1): 70-75.
- Kim WJ, Kim H, Kim CH, Lee MS, Oh BR, Lee HM and Katoh T (2002). "GSTT1-null genotype is a protective factor against bladder cancer." Urology **60**(5): 913-918.
- Kim WJ, Lee HL, Lee SC, Kim YT and Kim H (2000). "Polymorphisms of N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferase mu and theta genes as risk factors of bladder cancer in relation to asthma and tuberculosis." J Urol **164**(1): 209-213.
- Kimbrough RD (1987). "Human health effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs)." Annu Rev Pharmacol Toxicol **27**: 87-111.
- Kimbrough RD (1995). "Polychlorinated biphenyls (PCBs) and human health: an update." Crit Rev Toxicol **25**(2): 133-163.
- Kirschner BS and Sutton MM (1986). "Somatomedin-C levels in growth-impaired children and adolescents with chronic inflammatory bowel disease." Gastroenterology **91**(4): 830-836.
- Knekt P, Aromaa A, Maatela J, Aaran RK, Nikkari T, Hakama M, Hakulinen T, Peto R and Teppo L (1990). "Serum vitamin A and subsequent risk of cancer: cancer incidence follow-up of the Finnish Mobile Clinic Health Examination Survey." Am J Epidemiol **132**(5): 857-870.
- Knowles MA (1998). "Molecular genetics of bladder cancer: pathways of development and progression." Cancer Surv **31**: 49-76.
- Kogevinas M, Fernandez F, Garcia-Closas M, Tardon A, Garcia-Closas R, Serra C, Carrato A, Castano-Vinyals G, Yeager M, Chanock SJ, Lloreta J, Rothman N, Real FX, Dosemeci M, Malats N and Silverman D (2006). "Hair dye use is not associated with risk for bladder cancer: evidence from a case-control study in Spain." Eur J Cancer **42**(10): 1448-1454.
- Kogevinas M, Sala M, Boffetta P, Kazerouni N, Kromhout H and Hoar-Zahm S (1998). "Cancer risk in the rubber industry: a review of the recent epidemiological evidence." Occup Environ Med **55**(1): 1-12.
- Kogevinas M, t Mannetje A, Cordier S, Ranft U, Gonzalez CA, Vineis P, Chang-Claude J, Lynge E, Wahrendorf J, Tzonou A, Jockel KH, Serra C, Porru S, Hours M, Greiser E and Boffetta P (2003). "Occupation and bladder cancer among men in Western Europe." Cancer Causes Control **14**(10): 907-914.
- Koizumi A, Yoshinaga T, Harada K, Inoue K, Morikawa A, Muroi J, Inoue S, Eslami B, Fujii S, Fujimine Y, Hachiya N, Koda S, Kusaka Y, Murata K, Nakatsuka H, Omae K, Saito N, Shimbo S, Takenaka K, Takeshita T, Todoriki H, Wada Y, Watanabe T and Ikeda M (2005). "Assessment of human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in Japan using archived samples from the early 1980s and mid-1990s." Environ Res **99**(1): 31-39.
- Koppen G, Covaci A, Van Cleuvenbergen R, Schepens P, Winneke G, Nelen V, van Larebeke N, Vlietinck R and Schoeters G (2002). "Persistent organochlorine pollutants in human serum of 50-65 years old women in the Flanders Environmental and Health Study (FLEHS). Part 1: Concentrations and regional differences." Chemosphere **48**(8): 811-825.
- Kopps S, Angeli-Greaves M, Blaszkewicz M, Prager HM, Roemer HC, Lohlein D, Weistenhofer W, Bolt HM and Golka K (2008). "Glutathione S-transferase P1 ILE105Val polymorphism in occupationally exposed bladder cancer cases." J Toxicol Environ Health A **71**(13-14): 898-901.

- Kortenkamp A (2007). "Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals." Environ Health Perspect **115 Suppl 1**: 98-105.
- Kumar V, Yadav CS, Singh S, Goel S, Ahmed RS, Gupta S, Grover RK and Banerjee BD (2010). "CYP 1A1 polymorphism and organochlorine pesticides levels in the etiology of prostate cancer." Chemosphere **81**(4): 464-468.
- Kunze E, Chang-Claude J and Frentzel-Beyme R (1992). "Life style and occupational risk factors for bladder cancer in Germany. A case-control study." Cancer **69**(7): 1776-1790.
- la Vecchia C, Negri E, D'Avanzo B and Franceschi S (1990a). "Occupation and the risk of bladder cancer." Int J Epidemiol **19**(2): 264-268.
- La Vecchia C, Negri E, Parazzini F, Boyle P, D'Avanzo B, Levi F, Gentile A and Franceschi S (1990b). "Height and cancer risk in a network of case-control studies from northern Italy." Int J Cancer **45**(2): 275-279.
- Landi MT, Sinha R, Lang NP and Kadlubar FF (1999). "Human cytochrome P4501A2." IARC Sci Publ(148): 173-195.
- Landin-Wilhelmsen K, Wilhelmsen L, Lappas G, Rosen T, Lindstedt G, Lundberg PA and Bengtsson BA (1994). "Serum insulin-like growth factor I in a random population sample of men and women: relation to age, sex, smoking habits, coffee consumption and physical activity, blood pressure and concentrations of plasma lipids, fibrinogen, parathyroid hormone and osteocalcin." Clin Endocrinol (Oxf) **41**(3): 351-357.
- Lara PC, Bordon E, Rey A, Moreno M, Lloret M and Henriquez-Hernandez LA (2011). "IGF-1R expression predicts clinical outcome in patients with locally advanced oral squamous cell carcinoma." Oral Oncol **47**(7): 615-619.
- Larsson SC, Andersson SO, Johansson JE and Wolk A (2008). "Diabetes mellitus, body size and bladder cancer risk in a prospective study of Swedish men." Eur J Cancer **44**(17): 2655-2660.
- Leon DA, Smith GD, Shipley M and Strachan D (1995). "Adult height and mortality in London: early life, socioeconomic confounding, or shrinkage?" J Epidemiol Community Health **49**(1): 5-9.
- Leonards PE, van Hattum B and Leslie H (2008). "Assessing the risks of persistent organic pollutants to top predators: a review of approaches." Integr Environ Assess Manag **4**(4): 386-398.
- Li SL, Goko H, Xu ZD, Kimura G, Sun Y, Kawachi MH, Wilson TG, Wilczynski S and Fujita-Yamaguchi Y (1998). "Expression of insulin-like growth factor (IGF)-II in human prostate, breast, bladder, and paraganglioma tumors." Cell Tissue Res **291**(3): 469-479.
- Lin HJ, Han CY, Bernstein DA, Hsiao W, Lin BK and Hardy S (1994). "Ethnic distribution of the glutathione transferase Mu 1-1 (GSTM1) null genotype in 1473 individuals and application to bladder cancer susceptibility." Carcinogenesis **15**(5): 1077-1081.
- Lin J, Spitz MR, Dinney CP, Etzel CJ, Grossman HB and Wu X (2006). "Bladder cancer risk as modified by family history and smoking." Cancer **107**(4): 705-711.
- Longnecker MP and Michalek JE (2000). "Serum dioxin level in relation to diabetes mellitus among Air Force veterans with background levels of exposure." Epidemiology **11**(1): 44-48.
- Lopez-Carrillo L, Lopez-Cervantes M, Torres-Sanchez L, Blair A, Cebrian ME and Garcia RM (2002). "Serum levels of beta-hexachlorocyclohexane, hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyls and breast cancer in Mexican women." Eur J Cancer Prev **11**(2): 129-135.
- Loughran G, Huigsloot M, Kiely PA, Smith LM, Floyd S, Ayllon V and O'Connor R (2005). "Gene expression profiles in cells transformed by overexpression of the IGF-I receptor." Oncogene **24**(40): 6185-6193.
- Lucero L, Pastor S, Suarez S, Durban R, Gomez C, Parron T, Creus A and Marcos R (2000). "Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides:

- micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells." Mutat Res **464**(2): 255-262.
- Lundsberg LS, Bracken MB and Saftlas AF (1997). "Low-to-moderate gestational alcohol use and intrauterine growth retardation, low birthweight, and preterm delivery." Ann Epidemiol **7**(7): 498-508.
- Luzardo OP, Goethals M, Zumbado M, Alvarez-Leon EE, Cabrera F, Serra-Majem L and Boada LD (2006). "Increasing serum levels of non-DDT-derivative organochlorine pesticides in the younger population of the Canary Islands (Spain)." Sci Total Environ **367**(1): 129-138.
- Luzardo OP, Mahtani V, Troyano JM, Alvarez de la Rosa M, Padilla-Perez AI, Zumbado M, Almeida M, Burillo-Putze G, Boada C and Boada LD (2009). "Determinants of organochlorine levels detectable in the amniotic fluid of women from Tenerife Island (Canary Islands, Spain)." Environ Res **109**(5): 607-613.
- Lloret M, Lara PC, Bordon E, Pinar B, Rey A, Falcon O, Molano F and Hernandez MA (2007). "IGF-1R expression in localized vesical carcinoma patients treated by radiochemotherapy." Gynecol Oncol **106**(1): 8-11.
- Mahmoud MA, Ali MH, Hassoba HM and Elhadidy GS (2010). "Serum interleukin-8 and insulin like growth factor-1 in Egyptian bladder cancer patients." Cancer Biomark **6**(2): 105-110.
- Major JM, Laughlin GA, Kritz-Silverstein D, Wingard DL and Barrett-Connor E (2010). "Insulin-like growth factor-I and cancer mortality in older men." J Clin Endocrinol Metab **95**(3): 1054-1059.
- Malats N, Bustos A, Nascimento CM, Fernandez F, Rivas M, Puente D, Kogevinas M and Real FX (2005). "P53 as a prognostic marker for bladder cancer: a meta-analysis and review." Lancet Oncol **6**(9): 678-686.
- Malaveille C, Vineis P, Esteve J, Ohshima H, Brun G, Hautefeuille A, Gallet P, Ronco G, Terracini B and Bartsch H (1989). "Levels of mutagens in the urine of smokers of black and blond tobacco correlate with their risk of bladder cancer." Carcinogenesis **10**(3): 577-586.
- Man YB, Chow KL, Wang HS, Lau KY, Sun XL, Wu SC, Cheung KC, Chung SS and Wong MH "Health risk assessment of organochlorine pesticides with emphasis on DDTs and HCHs in abandoned agricultural soils." J Environ Monit **13**(8): 2250-2259.
- Mandal PK (2005). "Dioxin: a review of its environmental effects and its aryl hydrocarbon receptor biology." J Comp Physiol B **175**(4): 221-230.
- Manju L, George PS and Mathew A (2009). "Urinary bladder cancer risk among motor vehicle drivers: a meta-analysis of the evidence, 1977-2008." Asian Pac J Cancer Prev **10**(2): 287-294.
- Mannetje A, Kogevinas M, Chang-Claude J, Cordier S, Gonzalez CA, Hours M, Jockel KH, Bolm-Audorff U, Lynge E, Porru S, Donato F, Ranft U, Serra C, Tzonou A, Vineis P, Wahrendorf J and Boffetta P (1999). "Occupation and bladder cancer in European women." Cancer Causes Control **10**(3): 209-217.
- Marcus PM, Vineis P and Rothman N (2000). "NAT2 slow acetylation and bladder cancer risk: a meta-analysis of 22 case-control studies conducted in the general population." Pharmacogenetics **10**(2): 115-122.
- Mariussen E and Fonnum F (2006). "Neurochemical targets and behavioral effects of organohalogen compounds: an update." Crit Rev Toxicol **36**(3): 253-289.
- Matsumoto E, Kawanaka Y, Yun SJ and Oyaizu H (2009). "Bioremediation of the organochlorine pesticides, dieldrin and endrin, and their occurrence in the environment." Appl Microbiol Biotechnol **84**(2): 205-216.
- McClellan MD, Kelsey KT, Sison JD, Quesenberry CP, Jr., Wrensch MR and Wiencke JK (2011). "A case-control study of asphalt and tar exposure and lung cancer in minorities." Am J Ind Med **54**(11): 811-818.

- McCready D, Aronson KJ, Chu W, Fan W, Vesprini D and Narod SA (2004). "Breast tissue organochlorine levels and metabolic genotypes in relation to breast cancer risk Canada." Cancer Causes Control **15**(4): 399-418.
- McGrath M, Michaud D and De Vivo I (2006). "Polymorphisms in GSTT1, GSTM1, NAT1 and NAT2 genes and bladder cancer risk in men and women." BMC Cancer **6**: 239.
- Meador JP, Stein JE, Reichert WL and Varanasi U (1995). "Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms." Rev Environ Contam Toxicol **143**: 79-165.
- Melamed MR, Voutsas NG and Grabstald H (1993). "Natural history and clinical behavior of in situ carcinoma of the human urinary bladder. 1964." CA Cancer J Clin **43**(6): 348-370.
- Menzie CA, Potocki BB and Santodonato J (1992). "Exposure to carcinogenic PAHs in the environment." Environ. Sci. Technol. **26**: 1278 – 1284.
- Meyer GE, Shelden E, Kim B and Feldman EL (2001). "Insulin-like growth factor I stimulates motility in human neuroblastoma cells." Oncogene **20**(51): 7542-7550.
- Michaud DS, Kogevinas M, Cantor KP, Villanueva CM, Garcia-Closas M, Rothman N, Malats N, Real FX, Serra C, Garcia-Closas R, Tardon A, Carrato A, Dosemeci M and Silverman DT (2007). "Total fluid and water consumption and the joint effect of exposure to disinfection by-products on risk of bladder cancer." Environ Health Perspect **115**(11): 1569-1572.
- Michaud DS, Spiegelman D, Clinton SK, Rimm EB, Curhan GC, Willett WC and Giovannucci EL (1999a). "Fluid intake and the risk of bladder cancer in men." N Engl J Med **340**(18): 1390-1397.
- Michaud DS, Spiegelman D, Clinton SK, Rimm EB, Willett WC and Giovannucci EL (1999b). "Fruit and vegetable intake and incidence of bladder cancer in a male prospective cohort." J Natl Cancer Inst **91**(7): 605-613.
- Milne GWA (1995). CRC handbook of pesticides. Boca Raton, CRC Press.
- Miller MC, 3rd, Mohrenweiser HW and Bell DA (2001). "Genetic variability in susceptibility and response to toxicants." Toxicol Lett **120**(1-3): 269-280.
- Miquel J (2001). "Nutrition and ageing." Public Health Nutr **4**(6A): 1385-1388.
- Misaki K, Matsui S and Matsuda T (2007). "Metabolic enzyme induction by HepG2 cells exposed to oxygenated and nonoxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons." Chem Res Toxicol **20**(2): 277-283.
- Morales E, Sunyer J, Castro-Giner F, Estivill X, Julvez J, Ribas-Fito N, Torrent M, Grimalt JO and de Cid R (2008). "Influence of glutathione S-transferase polymorphisms on cognitive functioning effects induced by p,p'-DDT among preschoolers." Environ Health Perspect **116**(11): 1581-1585.
- Morrison AS (1984). "Advances in the etiology of urothelial cancer." Urol Clin North Am **11**(4): 557-566.
- Morrison AS, Buring JE, Verhoek WG, Aoki K, Leck I, Ohno Y and Obata K (1984). "An international study of smoking and bladder cancer." J Urol **131**(4): 650-654.
- Mostofi FK and Sesterhenn IA (1984). "Pathology of epithelial tumors & carcinoma in situ of bladder." Prog Clin Biol Res **162A**: 55-74.
- Murphy WM (1992). "Urothelial neoplasia." Monogr Pathol(34): 77-111.
- Murta-Nascimento C, Schmitz-Drager BJ, Zeegers MP, Steineck G, Kogevinas M, Real FX and Malats N (2007a). "Epidemiology of urinary bladder cancer: from tumor development to patient's death." World J Urol **25**(3): 285-295.
- Murta-Nascimento C, Silverman DT, Kogevinas M, Garcia-Closas M, Rothman N, Tardon A, Garcia-Closas R, Serra C, Carrato A, Villanueva C, Dosemeci M, Real FX and Malats N (2007b). "Risk of bladder cancer associated with family history of cancer: do low-penetrance polymorphisms account for the increase in risk?" Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **16**(8): 1595-1600.

- Naes K, Oug, E. (1997). "Multivariate Approach to Distribution Patterns and Fate of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sediments from Smelter-Affected Norwegian Fjords and Coastal Waters." Environmental Science and Technology **31**: 1283-1288.
- Najem GR, Louria DB, Seebode JJ, Thind IS, Prusakowski JM, Ambrose RB and Fernicola AR (1982). "Life time occupation, smoking, caffeine, saccharine, hair dyes and bladder carcinogenesis." Int J Epidemiol **11**(3): 212-217.
- Nan HM, Kim H, Lim HS, Choi JK, Kawamoto T, Kang JW, Lee CH, Kim YD and Kwon EH (2001). "Effects of occupation, lifestyle and genetic polymorphisms of CYP1A1, CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 on urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol concentrations." Carcinogenesis **22**(5): 787-793.
- Narahashi T (2002). "Nerve membrane ion channels as the target site of insecticides." Mini Rev Med Chem **2**(4): 419-432.
- Neal MS, Zhu J and Foster WG (2008). "Quantification of benzo[a]pyrene and other PAHs in the serum and follicular fluid of smokers versus non-smokers." Reprod Toxicol **25**(1): 100-106.
- Novosyadlyy R, Lann DE, Vijayakumar A, Rowzee A, Lazzarino DA, Fierz Y, Carboni JM, Gottardis MM, Pennisi PA, Molinolo AA, Kurshan N, Mejia W, Santopietro S, Yakar S, Wood TL and LeRoith D (2010). "Insulin-mediated acceleration of breast cancer development and progression in a nonobese model of type 2 diabetes." Cancer Res **70**(2): 741-751.
- O'Neil MJ (2006). The Merck index : an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Whitehouse Station, NJ, Merck.
- Okey AB, Riddick DS and Harper PA (1994). "The Ah receptor: mediator of the toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds." Toxicol Lett **70**(1): 1-22.
- Olmos D, Postel-Vinay S, Molife LR, Okuno SH, Schuetze SM, Paccagnella ML, Batzel GN, Yin D, Pritchard-Jones K, Judson I, Worden FP, Gualberto A, Scurr M, de Bono JS and Haluska P (2010). "Safety, pharmacokinetics, and preliminary activity of the anti-IGF-1R antibody figitumumab (CP-751,871) in patients with sarcoma and Ewing's sarcoma: a phase 1 expansion cohort study." Lancet Oncol **11**(2): 129-135.
- Olsen JH, Boice JD, Jr., Jensen JP and Fraumeni JF, Jr. (1989). "Cancer among epileptic patients exposed to anticonvulsant drugs." J Natl Cancer Inst **81**(10): 803-808.
- Olsson A, Kromhout H, Agostini M, Hansen J, Lassen CF, Johansen C, Kjaerheim K, Langard S, Stucker I, Ahrens W, Behrens T, Lindbohm ML, Heikkila P, Heederik D, Portengen L, Shaham J, Ferro G, de Vocht F, Burstyn I and Boffetta P (2010). "A case-control study of lung cancer nested in a cohort of European asphalt workers." Environ Health Perspect **118**(10): 1418-1424.
- Papa V, Pezzino V, Costantino A, Belfiore A, Giuffrida D, Frittitta L, Vannelli GB, Brand R, Goldfine ID and Vigneri R (1990). "Elevated insulin receptor content in human breast cancer." J Clin Invest **86**(5): 1503-1510.
- Park H, Lee SJ, Kang JH and Chang YS (2007). "Congener-specific approach to human PCB concentrations by serum analysis." Chemosphere **68**(9): 1699-1706.
- Pedersen-Bjergaard J, Ersboll J, Hansen VL, Sorensen BL, Christoffersen K, Hou-Jensen K, Nissen NI, Knudsen JB and Hansen MM (1988). "Carcinoma of the urinary bladder after treatment with cyclophosphamide for non-Hodgkin's lymphoma." N Engl J Med **318**(16): 1028-1032.
- Pelucchi C and La Vecchia C (2009). "Alcohol, coffee, and bladder cancer risk: a review of epidemiological studies." Eur J Cancer Prev **18**(1): 62-68.
- Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, Ketterer B and Taylor JB (1994). "Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism." Biochem J **300** (Pt 1): 271-276.
- Perera FP, Rauh V, Whyatt RM, Tsai WY, Tang D, Diaz D, Hoepner L, Barr D, Tu YH, Camann D and Kinney P (2006). "Effect of prenatal exposure to airborne polycyclic

- aromatic hydrocarbons on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children." Environ Health Perspect **114**(8): 1287-1292.
- Petrik J, Drobna B, Pavuk M, Jursa S, Wimmerova S and Chovancova J (2006). "Serum PCBs and organochlorine pesticides in Slovakia: age, gender, and residence as determinants of organochlorine concentrations." Chemosphere **65**(3): 410-418.
- Philibert A, Schwartz H and Mergler D (2009). "An exploratory study of diabetes in a First Nation community with respect to serum concentrations of p,p'-DDE and PCBs and fish consumption." Int J Environ Res Public Health **6**(12): 3179-3189.
- Piper JM, Tonascia J and Matanoski GM (1985). "Heavy phenacetin use and bladder cancer in women aged 20 to 49 years." N Engl J Med **313**(5): 292-295.
- Pitard A, Brennan P, Clavel J, Greiser E, Lopez-Abente G, Chang-Claude J, Wahrendorf J, Serra C, Kogevinas M and Boffetta P (2001). "Cigar, pipe, and cigarette smoking and bladder cancer risk in European men." Cancer Causes Control **12**(6): 551-556.
- Plna K and Hemminki K (2001). "Familial bladder cancer in the National Swedish Family Cancer Database." J Urol **166**(6): 2129-2133.
- Porta M, Gasull M, Puigdomenech E, Gari M, Bosch de Basea M, Guillen M, Lopez T, Bigas E, Pumarega J, Llebaria X, Grimalt JO and Tresserras R (2010). "Distribution of blood concentrations of persistent organic pollutants in a representative sample of the population of Catalonia." Environ Int **36**(7): 655-664.
- Prince MM, Hein MJ, Ruder AM, Waters MA, Laber PA and Whelan EA (2006). "Update: cohort mortality study of workers highly exposed to polychlorinated biphenyls (PCBs) during the manufacture of electrical capacitors, 1940-1998." Environ Health **5**: 13.
- Prior SJ, Hagberg JM, Paton CM, Douglass LW, Brown MD, McLenithan JC and Roth SM (2006). "DNA sequence variation in the promoter region of the VEGF gene impacts VEGF gene expression and maximal oxygen consumption." Am J Physiol Heart Circ Physiol **290**(5): H1848-1855.
- Probst-Hensch NM, Wang H, Goh VH, Seow A, Lee HP and Yu MC (2003). "Determinants of circulating insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 3 concentrations in a cohort of Singapore men and women." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **12**(8): 739-746.
- Puente D, Hartge P, Greiser E, Cantor KP, King WD, Gonzalez CA, Cordier S, Vineis P, Lynge E, Chang-Claude J, Porru S, Tzonou A, Jockel KH, Serra C, Hours M, Lynch CF, Ranft U, Wahrendorf J, Silverman D, Fernandez F, Boffetta P and Kogevinas M (2006). "A pooled analysis of bladder cancer case-control studies evaluating smoking in men and women." Cancer Causes Control **17**(1): 71-79.
- Pukkala E, Martinsen JI, Lynge E, Gunnarsdottir HK, Sørensen P, Tryggvadottir L, Weiderpass E and Kjaerheim K (2009). "Occupation and cancer - follow-up of 15 million people in five Nordic countries." Acta Oncol **48**(5): 646-790.
- Rafnsson V, Johannesdottir SG, Oddsson H, Benediktsson H, Tulinius H and Magnusson G (1988). "Mortality and cancer incidence among marine engineers and machinists in Iceland." Scand J Work Environ Health **14**(3): 197-200.
- Ravindra K, Sokhi R and van Grieken R (2008). "Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation." Atmospheric Environment **42**: 2895-2921.
- Rebeck TR (1997). "Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **6**(9): 733-743.
- Reddy DS, Ghanathay VV, Reddy SL and Shankariah K (1994). "Hepatotoxic effects of hexachlorocyclohexane on carbohydrate metabolism of a freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch)." Bull Environ Contam Toxicol **53**(5): 733-739.
- Reulen RC, Kellen E, Buntinx F, Brinkman M and Zeegers MP (2008). "A meta-analysis on the association between bladder cancer and occupation." Scand J Urol Nephrol Suppl(218): 64-78.

- Rinaldi S, Cleveland R, Norat T, Biessy C, Rohrmann S, Linseisen J, Boeing H, Pischon T, Panico S, Agnoli C, Palli D, Tumino R, Vineis P, Peeters PH, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita BH, Vrieling A, Allen NE, Roddam A, Bingham S, Khaw KT, Manjer J, Borgquist S, Dumeaux V, Torhild Gram I, Lund E, Trichopoulou A, Makrygiannis G, Benetou V, Molina E, Donate Suarez I, Barricarte Gurrea A, Gonzalez CA, Tormo MJ, Altzibar JM, Olsen A, Tjonneland A, Gronbaek H, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Slimani N, Boffetta P, Jenab M, Riboli E and Kaaks R (2010). "Serum levels of IGF-I, IGFBP-3 and colorectal cancer risk: results from the EPIC cohort, plus a meta-analysis of prospective studies." Int J Cancer **126**(7): 1702-1715.
- Rioja Zuazu J, Bandres Elizalde E, Rosell Costa D, Rincon Mayans A, Zudaire Bergera J, Gil Sanz MJ, Rioja Sanz LA, Garcia Foncillas J and Berian Polo JM (2007). "[Steroid and xenobiotic receptor (SXR), multidrug resistance gene (MDR1) and GSTs, SULTs and CYP polymorphism expression in invasive bladder cancer, analysis of their expression and correlation with other prognostic factors]." Actas Urol Esp **31**(10): 1107-1116.
- Ritchie JM, Vial SL, Fuortes LJ, Guo H, Reedy VE and Smith EM (2003). "Organochlorines and risk of prostate cancer." J Occup Environ Med **45**(7): 692-702.
- Rouissi K, Ouerhani S, Marrakchi R, Ben Slama MR, Sfaxi M, Ayed M, Chebil M and El Gaaied AB (2009). "Combined effect of smoking and inherited polymorphisms in arylamine N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferases M1 and T1 on bladder cancer in a Tunisian population." Cancer Genet Cytogenet **190**(2): 101-107.
- Ruan Q, Gelhaus SL, Penning TM, Harvey RG and Blair IA (2007). "Aldo-keto reductase- and cytochrome P450-dependent formation of benzo[a]pyrene-derived DNA adducts in human bronchoalveolar cells." Chem Res Toxicol **20**(3): 424-431.
- Safe S (1990). "Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs)." Crit Rev Toxicol **21**(1): 51-88.
- Safe S (2005). "Clinical correlates of environmental endocrine disruptors." Trends Endocrinol Metab **16**(4): 139-144.
- Sak SC, Barrett JH, Paul AB, Bishop DT and Kiltie AE (2005). "The polyAT, intronic IVS11-6 and Lys939Gln XPC polymorphisms are not associated with transitional cell carcinoma of the bladder." Br J Cancer **92**(12): 2262-2265.
- Sala M, Cordier S, Chang-Claude J, Donato F, Escolar-Pujolar A, Fernandez F, Gonzalez CA, Greiser E, Jockel KH, Lynge E, Mannetje A, Pohlmann H, Porru S, Serra C, Tzonou A, Vineis P, Wahrendorf J, Boffetta P and Kogevinas M (2000). "Coffee consumption and bladder cancer in nonsmokers: a pooled analysis of case-control studies in European countries." Cancer Causes Control **11**(10): 925-931.
- Samanic C, Kogevinas M, Dosemeci M, Malats N, Real FX, Garcia-Closas M, Serra C, Carrato A, Garcia-Closas R, Sala M, Lloreta J, Tardon A, Rothman N and Silverman DT (2006). "Smoking and bladder cancer in Spain: effects of tobacco type, timing, environmental tobacco smoke, and gender." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **15**(7): 1348-1354.
- Sant M, Allemani C, Santaquilani M, Knijn A, Marchesi F and Capocaccia R (2009). "EUROCORE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary." Eur J Cancer **45**(6): 931-991.
- Sanyal S, Festa F, Sakano S, Zhang Z, Steineck G, Norming U, Wijkstrom H, Larsson P, Kumar R and Hemminki K (2004). "Polymorphisms in DNA repair and metabolic genes in bladder cancer." Carcinogenesis **25**(5): 729-734.
- Sawada N, Iwasaki M, Inoue M, Itoh H, Sasazuki S, Yamaji T, Shimazu T and Tsugane S (2010). "Plasma organochlorines and subsequent risk of prostate cancer in Japanese men: a nested case-control study." Environ Health Perspect **118**(5): 659-665.

- Schabath MB, Delclos GL, Grossman HB, Wang Y, Lerner SP, Chamberlain RM, Spitz MR and Wu X (2005). "Polymorphisms in XPD exons 10 and 23 and bladder cancer risk." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **14**(4): 878-884.
- Schabath MB, Spitz MR, Grossman HB, Zhang K, Dinney CP, Zheng PJ and Wu X (2003). "Genetic instability in bladder cancer assessed by the comet assay." J Natl Cancer Inst **95**(7): 540-547.
- Schaeffer DJ, Dellinger JA, Needham LL and Hansen LG (2006). "Serum PCB profiles in Native Americans from Wisconsin based on region, diet, age, and gender: Implications for epidemiology studies." Sci Total Environ **357**(1-3): 74-87.
- Schechter A, Birnbaum L, Ryan JJ and Constable JD (2006). "Dioxins: an overview." Environ Res **101**(3): 419-428.
- Scherer G (2005). "Biomonitoring of inhaled complex mixtures--ambient air, diesel exhaust and cigarette smoke." Exp Toxicol Pathol **57 Suppl 1**: 75-110.
- Scherer G and Richter E (1997). "Biomonitoring exposure to environmental tobacco smoke (ETS): a critical reappraisal." Hum Exp Toxicol **16**(8): 449-459.
- Schneider HJ, Saller B, Klotsche J, Marz W, Erwa W, Wittchen HU and Stalla GK (2006). "Opposite associations of age-dependent insulin-like growth factor-I standard deviation scores with nutritional state in normal weight and obese subjects." Eur J Endocrinol **154**(5): 699-706.
- Schober W, Pusch G, Oeder S, Reindl H, Behrendt H and Buters JT (2010). "Metabolic activation of phenanthrene by human and mouse cytochromes P450 and pharmacokinetics in CYP1A2 knockout mice." Chem Biol Interact **183**(1): 57-66.
- Schoket B (1999). "DNA damage in humans exposed to environmental and dietary polycyclic aromatic hydrocarbons." Mutat Res **424**(1-2): 143-153.
- Sell C, Dumenil G, Deveaud C, Miura M, Coppola D, DeAngelis T, Rubin R, Efstratiadis A and Baserga R (1994). "Effect of a null mutation of the insulin-like growth factor I receptor gene on growth and transformation of mouse embryo fibroblasts." Mol Cell Biol **14**(6): 3604-3612.
- Serel TA, Turan T, Soyupek S, Aybek Z and Perk H (2003). "Urine and serum free IGF-1 levels in patients with bladder cancer: a brief report." Urol Res **31**(5): 297-299.
- Serra Majem L, Cabrera Leon A and Sierra Lopez A (2000). "[Conclusions of the Canary Islands Nutrition Survey (1997-98). Foundations for a nutrition policy in Canary Islands]." Arch Latinoam Nutr **50**(1 Suppl 1): 62-70.
- Shahbazi M, Fryer AA, Pravica V, Brogan IJ, Ramsay HM, Hutchinson IV and Harden PN (2002). "Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection." J Am Soc Nephrol **13**(1): 260-264.
- Shariat SF, Kim J, Nguyen C, Wheeler TM, Lerner SP and Slawin KM (2003). "Correlation of preoperative levels of IGF-I and IGFBP-3 with pathologic parameters and clinical outcome in patients with bladder cancer." Urology **61**(2): 359-364.
- Shimada T, Gillam EM, Oda Y, Tsumura F, Sutter TR, Guengerich FP and Inoue K (1999). "Metabolism of benzo[a]pyrene to trans-7,8-dihydroxy-7, 8-dihydrobenzo[a]pyrene by recombinant human cytochrome P450 1B1 and purified liver epoxide hydrolase." Chem Res Toxicol **12**(7): 623-629.
- Shou M, Korzekwa KR, Crespi CL, Gonzalez FJ and Gelboin HV (1994). "The role of 12 cDNA-expressed human, rodent, and rabbit cytochromes P450 in the metabolism of benzo[a]pyrene and benzo[a]pyrene trans-7,8-dihydrodiol." Mol Carcinog **10**(3): 159-168.
- Silverberg E (1987). "Statistical and epidemiologic data on urologic cancer." Cancer **60**(3 Suppl): 692-717.
- Silverman DT, Alguacil J, Rothman N, Real FX, Garcia-Closas M, Cantor KP, Malats N, Tardon A, Serra C, Garcia-Closas R, Carrato A, Lloreta J, Samanic C, Dosemeci M and Kogevinas M (2008). "Does increased urination frequency protect against bladder cancer?" Int J Cancer **123**(7): 1644-1648.

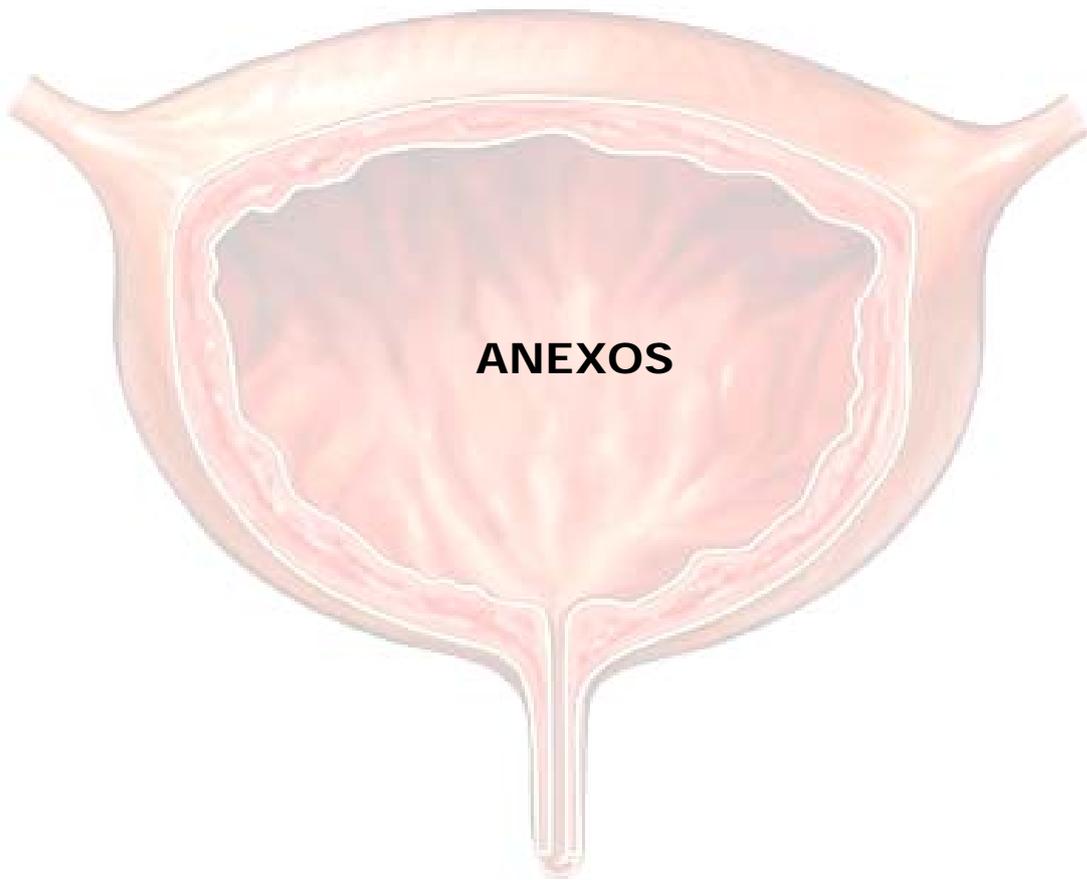
- Simic T, Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, Matic M and Mimic-Oka J (2009). "Glutathione S-transferases in kidney and urinary bladder tumors." Nat Rev Urol **6**(5): 281-289.
- Singh S, Kumar V, Singh P, Thakur S, Banerjee BD, Rautela RS, Grover SS, Rawat DS, Pasha ST, Jain SK and Rai A (2011). "Genetic polymorphisms of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 and susceptibility to DNA damage in workers occupationally exposed to organophosphate pesticides." Mutat Res **725**(1-2): 36-42.
- Skipper PL, Tannenbaum SR, Ross RK and Yu MC (2003). "Nonsmoking-related arylamine exposure and bladder cancer risk." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **12**(6): 503-507.
- Snedeker SM (2001). "Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin." Environ Health Perspect **109 Suppl 1**: 35-47.
- Song DK, Xing DL, Zhang LR, Li ZX, Liu J and Qiao BP (2009). "Association of NAT2, GSTM1, GSTT1, CYP2A6, and CYP2A13 gene polymorphisms with susceptibility and clinicopathologic characteristics of bladder cancer in Central China." Cancer Detect Prev **32**(5-6): 416-423.
- Spinelli JJ, Gallagher RP, Band PR, Threlfall WJ, Raynor D and Schellekens H (1990). "Occupational associations among British Columbia male cancer patients." Can J Public Health **81**(4): 254-258.
- Srinivasan K, Ramesh HP and Radhakrishnamurthy R (1984). "Renal tubular dysfunction caused by dietary hexachlorocyclohexane (HCH) isomers." J Environ Sci Health B **19**(4-5): 453-466.
- Srivastava N, Harit G and Srivastava R (2009). "A study of physico-chemical characteristics of lakes around Jaipur, India." J Environ Biol **30**(5 Suppl): 889-894.
- Steineck G, Plato N, Alfredsson L and Norell SE (1989). "Industry-related urothelial carcinogens: application of a job-exposure matrix to census data." Am J Ind Med **16**(2): 209-224.
- Steineck G, Plato N, Gerhardsson M, Norell SE and Hogstedt C (1990). "Increased risk of urothelial cancer in Stockholm during 1985-87 after exposure to benzene and exhausts." Int J Cancer **45**(6): 1012-1017.
- Steinmaus CM, Nunez S and Smith AH (2000). "Diet and bladder cancer: a meta-analysis of six dietary variables." Am J Epidemiol **151**(7): 693-702.
- Stevens A, Soden J, Brenchley PE, Ralph S and Ray DW (2003). "Haplotype analysis of the polymorphic human vascular endothelial growth factor gene promoter." Cancer Res **63**(4): 812-816.
- Stubbs HA, Harris J and Spear RC (1984). "A proportionate mortality analysis of California agricultural workers, 1978-1979." Am J Ind Med **6**(4): 305-320.
- Succurro E, Arturi F, Grembale A, Iorio F, Laino I, Andreozzi F, Sciacqua A, Hribal ML, Perticone F and Sesti G (2010). "Positive association between plasma IGF1 and high-density lipoprotein cholesterol levels in adult nondiabetic subjects." Eur J Endocrinol **163**(1): 75-80.
- Sunol C, Vale C and Rodriguez-Farre E (1998). "Polychlorocycloalkane insecticide action on GABA-and glycine-dependent chloride flux." Neurotoxicology **19**(4-5): 573-580.
- Surmacz E (2000). "Function of the IGF-I receptor in breast cancer." J Mammary Gland Biol Neoplasia **5**(1): 95-105.
- Tada Y, Wada M, Migita T, Nagayama J, Hinoshita E, Mochida Y, Maehara Y, Tsuneyoshi M, Kuwano M and Naito S (2002). "Increased expression of multidrug resistance-associated proteins in bladder cancer during clinical course and drug resistance to doxorubicin." Int J Cancer **98**(4): 630-635.
- Takkouche B, Etminan M and Montes-Martinez A (2005). "Personal use of hair dyes and risk of cancer: a meta-analysis." JAMA **293**(20): 2516-2525.

- Tang D, Li TY, Liu JJ, Chen YH, Qu L and Perera F (2006). "PAH-DNA adducts in cord blood and fetal and child development in a Chinese cohort." Environ Health Perspect **114**(8): 1297-1300.
- Tomei F, Ciarrocca M, Rosati MV, Baccolo TP, Fiore P, Perrone P and Tomao E (2004). "Occupational exposure to urban pollutants and plasma insulin-like growth factor 1 (IGF-1)." Int J Environ Health Res **14**(2): 135-142.
- Turesky RJ, Freeman JP, Holland RD, Nestorick DM, Miller DW, Ratnasinghe DL and Kadlubar FF (2003). "Identification of aminobiphenyl derivatives in commercial hair dyes." Chem Res Toxicol **16**(9): 1162-1173.
- Turgut S, Yaren A, Kursunluoglu R and Turgut G (2007). "MDR1 C3435T polymorphism in patients with breast cancer." Arch Med Res **38**(5): 539-544.
- Unal M, Tamer L, Ates NA, Akbas Y, Pata YS, Vayisoglu Y, Ercan B, Gorur K and Atik U (2004). "Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 gene polymorphism in laryngeal squamous cell carcinoma." Am J Otolaryngol **25**(5): 318-322.
- United-Nations-Environmental-Program (2001). "Stockholm Convention on persistent organic pollutants: the new substances under the Stockholm Convention." <http://chm.pops.int/Programmes/NewPOPs/tabid/672/laquaje/en-US/Default.aspx>.
- Vagero D and Persson G (1986). "Occurrence of cancer in socioeconomic groups in Sweden. An analysis based on the Swedish Cancer Environment Registry." Scand J Soc Med **14**(3): 151-160.
- Van den Berg M, Birnbaum L, Bosveld AT, Brunstrom B, Cook P, Feeley M, Giesy JP, Hanberg A, Hasegawa R, Kennedy SW, Kubiak T, Larsen JC, van Leeuwen FX, Liem AK, Nolt C, Peterson RE, Poellinger L, Safe S, Schrenk D, Tillitt D, Tysklind M, Younes M, Waern F and Zacharewski T (1998). "Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife." Environ Health Perspect **106**(12): 775-792.
- Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, Fiedler H, Hakansson H, Hanberg A, Haws L, Rose M, Safe S, Schrenk D, Tohyama C, Tritscher A, Tuomisto J, Tysklind M, Walker N and Peterson RE (2006). "The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds." Toxicol Sci **93**(2): 223-241.
- Van Metre PC, Mahler, B.J., Furlong, E.T. (2000). "Urban Sprawl Leaves its PAH signature." Environmental, Science and Technology **34**: 4064-4070.
- Varona ME, Diaz-Criollo SM, Lancheros-Bernal AR, Murcia-Orjuela AM, Henao-Londono GL and Idrovo AJ (2010). "Organochlorine pesticide exposure among agricultural workers in Colombian regions with illegal crops: an exploration in a hidden and dangerous world." Int J Environ Health Res **20**(6): 407-414.
- Vatsis KP, Martell KJ and Weber WW (1991). "Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N-acetyltransferase." Proc Natl Acad Sci U S A **88**(14): 6333-6337.
- Veys CA (2004). "Bladder tumours in rubber workers: a factory study 1946-1995." Occup Med (Lond) **54**(5): 322-329.
- Viel JF and Challier B (1995). "Bladder cancer among French farmers: does exposure to pesticides in vineyards play a part?" Occup Environ Med **52**(9): 587-592.
- Vigneri P, Frasca F, Sciacca L, Pandini G and Vigneri R (2009). "Diabetes and cancer." Endocr Relat Cancer **16**(4): 1103-1123.
- Villanueva C, Kogevinas M and Grimalt J (2001). "[Chlorination of drinking water in Spain and bladder cancer]." Gac Sanit **15**(1): 48-53.
- Villanueva CM, Cantor KP, King WD, Jaakkola JJ, Cordier S, Lynch CF, Porru S and Kogevinas M (2006). "Total and specific fluid consumption as determinants of bladder cancer risk." Int J Cancer **118**(8): 2040-2047.
- Villanueva CM, Fernandez F, Malats N, Grimalt JO and Kogevinas M (2003). "Meta-analysis of studies on individual consumption of chlorinated drinking water and bladder cancer." J Epidemiol Community Health **57**(3): 166-173.

- Villanueva CM, Silverman DT, Murta-Nascimento C, Malats N, Garcia-Closas M, Castro F, Tardon A, Garcia-Closas R, Serra C, Carrato A, Rothman N, Real FX, Dosemeci M and Kogevinas M (2009). "Coffee consumption, genetic susceptibility and bladder cancer risk." Cancer Causes Control **20**(1): 121-127.
- Vineis P and Pirastu R (1997). "Aromatic amines and cancer." Cancer Causes Control **8**(3): 346-355.
- vom Saal FS, Akingbemi BT, Belcher SM, Birnbaum LS, Crain DA, Eriksen M, Farabollini F, Guillette LJ, Jr., Hauser R, Heindel JJ, Ho SM, Hunt PA, Iguchi T, Jobling S, Kanno J, Keri RA, Knudsen KE, Laufer H, LeBlanc GA, Marcus M, McLachlan JA, Myers JP, Nadal A, Newbold RR, Olea N, Prins GS, Richter CA, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM, Talsness CE, Vandenberg JG, Vandenberg LN, Walser-Kuntz DR, Watson CS, Welshons WV, Wetherill Y and Zoeller RT (2007). "Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure." Reprod Toxicol **24**(2): 131-138.
- Walsh PC (2004). Campbell urología. Buenos Aires ; Madrid, Editorial Médica Panamericana.
- Wang YZ and Wong YC (1998). "Sex hormone-induced prostatic carcinogenesis in the noble rat: the role of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the development of prostate cancer." Prostate **35**(3): 165-177.
- Weihrauch MR and Diehl V (2004). "Artificial sweeteners--do they bear a carcinogenic risk?" Ann Oncol **15**(10):1460-5.
- Weir JM and Dunn JE, Jr. (1970). "Smoking and mortality: a prospective study." Cancer **25**(1): 105-112.
- WHO (2003). "Health Risks of Persistent Organic Pollutants from Long-Range Transboundary Air Pollution." (www.who.int).
- Wiencke JK, Pemble S, Ketterer B and Kelsey KT (1995). "Gene deletion of glutathione S-transferase theta: correlation with induced genetic damage and potential role in endogenous mutagenesis." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **4**(3): 253-259.
- Wiklund K and Holm LE (1986). "Trends in cancer risks among Swedish agricultural workers." J Natl Cancer Inst **77**(3): 657-664.
- Wittekind C, Compton CC, Greene FL and Sobin LH (2002). "TNM residual tumor classification revisited." Cancer **94**(9): 2511-2516.
- Wong PS and Matsumura F (2007). "Promotion of breast cancer by beta-hexachlorocyclohexane in MCF10AT1 cells and MMTV-neu mice." BMC Cancer **7**: 130.
- Wu JC, Daughaday WH, Lee SD, Hsiao TS, Chou CK, Lin HD, Tsai YT and Chiang BN (1988). "Radioimmunoassay of serum IGF-I and IGF-II in patients with chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma with or without hypoglycemia." J Lab Clin Med **112**(5): 589-594.
- Wu X, Amos CI, Zhu Y, Zhao H, Grossman BH, Shay JW, Luo S, Hong WK and Spitz MR (2003a). "Telomere dysfunction: a potential cancer predisposition factor." J Natl Cancer Inst **95**(16): 1211-1218.
- Wu X, Gu J, Grossman HB, Amos CI, Etzel C, Huang M, Zhang Q, Millikan RE, Lerner S, Dinney CP and Spitz MR (2006). "Bladder cancer predisposition: a multigenic approach to DNA-repair and cell-cycle-control genes." Am J Hum Genet **78**(3): 464-479.
- Wu Y, Cui K, Miyoshi K, Hennighausen L, Green JE, Setser J, LeRoith D and Yakar S (2003b). "Reduced circulating insulin-like growth factor I levels delay the onset of chemically and genetically induced mammary tumors." Cancer Res **63**(15): 4384-4388.

- Wu Y, Yakar S, Zhao L, Hennighausen L and LeRoith D (2002). "Circulating insulin-like growth factor-I levels regulate colon cancer growth and metastasis." Cancer Res **62**(4): 1030-1035.
- Xie QX, Lin XC, Zhang MF, Han CX and Guo YH (2004). "[Expression of IGF-I and IGF-IR in bladder cancer]." Ai Zheng **23**(6): 707-709.
- Xu X, Dailey AB, Talbott EO, Ilacqua VA, Kearney G and Asal NR (2010). "Associations of serum concentrations of organochlorine pesticides with breast cancer and prostate cancer in U.S. adults." Environ Health Perspect **118**(1): 60-66.
- Yang H, Yang K, Khafagi A, Tang Y, Carey TE, Opipari AW, Lieberman R, Oeth PA, Lancaster W, Klinger HP, Kaseb AO, Metwally A, Khaled H and Kurnit DM (2005). "Sensitive detection of human papillomavirus in vesical, head/neck, and schistosomiasis-associated bladder malignancies." Proc Natl Acad Sci U S A **102**(21): 7683-7688.
- Yu MC, Skipper PL, Taghizadeh K, Tannenbaum SR, Chan KK, Henderson BE and Ross RK (1994). "Acetylator phenotype, aminobiphenyl-hemoglobin adduct levels, and bladder cancer risk in white, black, and Asian men in Los Angeles, California." J Natl Cancer Inst **86**(9): 712-716.
- Yu X, Bao Z, Zou J and Dong J (2011). "Coffee consumption and risk of cancers: a meta-analysis of cohort studies." BMC Cancer **11**: 96.
- Zeegers MP, Dorant E, Goldbohm RA and van den Brandt PA (2001a). "Are coffee, tea, and total fluid consumption associated with bladder cancer risk? Results from the Netherlands Cohort Study." Cancer Causes Control **12**(3): 231-238.
- Zeegers MP, Goldbohm RA and van den Brandt PA (2001b). "Are retinol, vitamin C, vitamin E, folate and carotenoids intake associated with bladder cancer risk? Results from the Netherlands Cohort Study." Br J Cancer **85**(7): 977-983.
- Zeegers MP, Goldbohm RA and van den Brandt PA (2002). "A prospective study on active and environmental tobacco smoking and bladder cancer risk (The Netherlands)." Cancer Causes Control **13**(1): 83-90.
- Zeegers MP, Kellen E, Buntinx F and van den Brandt PA (2004). "The association between smoking, beverage consumption, diet and bladder cancer: a systematic literature review." World J Urol **21**(6): 392-401.
- Zeegers MP, Swaen GM, Kant I, Goldbohm RA and van den Brandt PA (2001c). "Occupational risk factors for male bladder cancer: results from a population based case cohort study in the Netherlands." Occup Environ Med **58**(9): 590-596.
- Zeegers MP, Tan FE, Goldbohm RA and van den Brandt PA (2001d). "Are coffee and tea consumption associated with urinary tract cancer risk? A systematic review and meta-analysis." Int J Epidemiol **30**(2): 353-362.
- Zeegers MP, Volovics A, Dorant E, Goldbohm RA and van den Brandt PA (2001e). "Alcohol consumption and bladder cancer risk: results from The Netherlands Cohort Study." Am J Epidemiol **153**(1): 38-41.
- Zeng FF, Liu SY, Wei W, Yao SP, Zhu S, Li KS, Wan G, Zhang HT, Zhong M and Wang BY (2010). "Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase T1 and bladder cancer risk: a meta-analysis." Clin Exp Med **10**(1): 59-68.
- Zhao B, Shen H, Liu F, Liu S, Niu J, Guo F and Sun X (2011). "Exposure to organochlorine pesticides is independent risk factor of hepatocellular carcinoma: A case-control study." J Expo Sci Environ Epidemiol **21**(6): 601-608.
- Zhao H, Grossman HB, Spitz MR, Lerner SP, Zhang K and Wu X (2003). "Plasma levels of insulin-like growth factor-1 and binding protein-3, and their association with bladder cancer risk." J Urol **169**(2): 714-717.
- Zhou Y, Tian C, Jia C (2012). "A dose-response meta-analysis of coffee consumption and bladder cancer." Prev Med **55**(1):14-22.

- Zou E and Matsumura F (2003). "Long-term exposure to beta-hexachlorocyclohexane (beta-HCH) promotes transformation and invasiveness of MCF-7 human breast cancer cells." Biochem Pharmacol **66**(5): 831-840.
- Zubero MB, Ibarluzea JM, Aurrekoetxea JJ, Rivera J, Parera J, Abad E, Goni F, Lopez R, Etxeandia A, Rodriguez C and Saenz JR (2009). "Serum levels of polychlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans and PCBs in the general population living near an urban waste treatment plant in Biscay, Basque Country." Chemosphere **76**(6): 784-791.
- Zubor P, Lasabova Z, Hatok J, Stanclova A and Danko J (2007). "A polymorphism C3435T of the MDR-1 gene associated with smoking or high body mass index increases the risk of sporadic breast cancer in women." Oncol Rep **18**(1): 211-217.
- Zumbado M, Goethals M, Alvarez-Leon EE, Luzardo OP, Cabrera F, Serra-Majem L and Dominguez-Boada L (2005). "Inadvertent exposure to organochlorine pesticides DDT and derivatives in people from the Canary Islands (Spain)." Sci Total Environ **339**(1-3): 49-62.
- Zumbado M, Luzardo OP, Lara PC, Alvarez-Leon EE, Losada A, Apolinario R, Serra-Majem L and Boada LD (2010). "Insulin-like growth factor-I (IGF-I) serum concentrations in healthy children and adolescents: relationship to level of contamination by DDT-derivative pesticides." Growth Horm IGF Res **20**(1): 63-67.



ANEXOS

ANEXO I



Servicio Canario de la Salud
Complejo Hospitalario Universitario
Insular - Materno Infantil



Las Palmas de Gran Canaria, a 22 de febrero de 2008

Ha sido solicitado a esta comisión de Investigación Docencia y Formación Continuada informe relativo al proyecto de investigación cuyo titulo es "Implicación de los Contaminantes Orgánicos Persistentes e Insulin Growth Factor en el cáncer de vejiga: Estudio de casos y controles Hospitalarios "por parte de los Dres Nicolás Ramón Chesa Ponce y Dr. Patricio Navarro Medina

Este proyecto, a juicio de esta Comisión de Investigación Docencia y Formación Continuada, es enteramente viable. Considerando que es un estudio interesante, novedoso, pertinente y relevante, en consonancia con los objetivos del este Hospital Universitario Insular de Gran Canaria, es por lo que se autoriza dicho proyecto.

Fdo. Dr. J.C. Rodríguez Bermejo
Presidente Comisión de Investigación
Docencia y Formación Continuada
Hospital Universitario Insular de GC
Hospital Universitario
Insular de Gran Canaria

ANEXO II

N° DE REGISTRO:

ENCUESTA RECOGIDA DATOS ESTUDIO COPi-URO.

ETIQUETA IDENTIFICATIVA

PREGUNTAS EXCLUSIVAS PARA CONTROLES:

¿Le han diagnosticado alguna vez cáncer o tumor maligno (de cualquier origen)?:

No

Si (Si respuesta positiva, queda excluido del estudio).

¿Ha orinado sangre alguna vez?

No

Si (Si respuesta positiva, queda excluido del estudio).

PARA TODOS:

¿Ha leído y firmado el consentimiento informado?:

No (Si respuesta negativa, queda excluido del estudio).

Si

Nº DE REGISTRO:

FORMULARIO RECOGIDA DATOS.

Fecha: ___/___/200_ Número H^a Clínica (si etiqueta no disponible) : _____

Servicio donde está ingresado: _____

Motivo de ingreso (*obtener de revisión historia clínica PREVIA a la entrevista*): _____

—

CONFIRMAR LA IDENTIDAD DEL SUJETO CON LA ETIQUETA. PRESENTARSE Y EXPLICAR BREVEMENTE EL ESTUDIO; AGRADECIENDO SU COLABORACIÓN.

Vamos a empezar con algunas preguntas acerca de sus antecedentes:

Nombre y apellidos (*si etiqueta no disponible*): _____

Sexo (*codificar SIN preguntar*): (1) Hombre (2) Mujer

Fecha nacimiento: ___/___/_____ (*si no recuerda fecha, anotar edad*: _____ años)

¿Dónde vive usted actualmente?:

En Las Palmas de Gran Canaria (Ciudad)

En otros municipios del área sur de GC (Urbano/Semirrural/Rural) *Tachar lo que proceda*

En Fuerteventura. (Urbano/Semirrural/Rural) *Tachar lo que proceda*

En otro sitio (*En ese caso: queda excluido del estudio. Agradecer su colaboración y despedirse*).

¿Ha vivido toda su vida en ese sitio?:

Si (*pase a la pregunta 6*)

No

No sabe, no contesta

Me gustaría saber en qué sitios ha vivido usted durante MAS de 1 año. Si ha vivido en varios sitios durante más de un año en cada uno, díganos en cuántos sitios:

Urbano (>100.000 hab), ciudad grande (*indicar el número TOTAL de sitios urbanos donde ha vivido > 1 año*) _____ sitios

Semirrural (10.000-100.000 hab), Ciudad pequeña (*indicar el número TOTAL de sitios semirrurales donde ha vivido > 1 año*) _____ sitios

Rural (<10.000 hab), pueblo (*indicar el número TOTAL de sitios rurales donde ha vivido > 1 año*) _____ sitios

No sabe/no contesta

A continuación me gustaría hacerle algunas preguntas sobre el tipo de trabajo que usted ha desempeñado.

Contésteme SI ó NO, si ha desempeñado alguna de las siguientes profesiones alguna vez en su vida profesional:

Agricultura	SI NO	NS/NC
Industria química	SI NO	NS/NC
Conductor/maquinista	SI NO	NS/NC
Pintor	SI NO	NS/NC
Turismo	SI NO	NS/NC

Durante el trabajo o tiempo libre, ¿ha utilizado usted pesticidas/insecticidas?

- Si, con frecuencia
- Si, de vez en cuando (esporádicamente)
- No, nunca
- No sabe/no contesta

Ahora le voy a preguntar algunas cuestiones sobre sus hábitos y estilo de vida

¿Cuánto mide usted de altura? _____ centímetros.

¿Cual es su peso actual? _____ kg. ¿Cuál ha sido su peso HABITUAL? _____ kg

¿Fuma en la actualidad?

- Sí, regularmente
- Si, ocasionalmente (es decir, menos de 1 cigarrillo al día)
- No (*pasar a la pregunta 12*)

¿Cuántos cigarrillos fuma de media al día? _____ cigarrillos (*pasar a la pregunta*

14)

¿Ha fumado alguna vez?

- Sí regularmente (al menos 6 meses)
- Si, ocasionalmente (menos de 1 cigarrillo al día)
- No (*pasar a la pregunta 16*)

¿Cuándo dejó de fumar?

- Hace menos de 1 mes
- Entre 1 y 6 meses
- Entre 6 y 12 meses
- Hace más de 1 año, en el año _____

¿Ha fumado alguna vez cigarros-puros o pipa?

No, nunca

Sí he fumado cigarros-puros o pipa, pero lo dejé

Sí, fumo ocasionalmente cigarros-puros o pipa (menos de 1 al día)

Sí, fumo de forma regular cigarros-puros o pipa (diariamente en la actualidad)

¿A qué edad empezó a fumar?: a los _____ años

CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE BEBIDAS: A continuación le preguntaré con que frecuencia acostumbra a tomar una serie de bebidas, debe responder si no los toma **NUNCA (N)**, **DIARIAMENTE (D)**, **SEMANALMENTE (S)**, **MENSUALMENTE (M)** o **ANUALMENTE (A)** y cuántas veces los toma.

		FRECUENCIA				
	Alimento	N	D	S	M	A
(1)	Bebidas refrescantes con gas (1 vaso)					
(2)	Bebidas refrescantes sin gas (1 vaso)					
(3)	Café normal-con cafeína (1 taza)					
(4)	Café descafeinado (1 taza)					
(5)	Té (1 taza)					
(6)	Cerveza (1 vaso)					
(7)	Vino (1 vaso)					
(8)	Otras bebidas alcohólicas (1 copa)					
(9)	Agua del grifo (1 vaso)					
(10)	Agua mineral sin gas (1 vaso)					
(11)	Agua mineral con gas (1 vaso)					

17.¿Sus padres o hermanos han sufrido cáncer de vejiga o vías urinarias? (entrevistador: señale con (1) cuando responda SI, con (2) cuando responda NO, o con (3) cuando no sepa/no responda en CADA opción)

	(1) SI	(2) NO	(3) NO SABE/ NO CONTESTA
Padre			
Madre			
Hermano			

Hermana			
---------	--	--	--

Posteriormente a la entrevista, revisar de historia clínica:

Analítica de sangre (*anotar los resultados de la analítica disponible MÁS CERCANA a la fecha de la entrevista*)

Fecha: _____ / _____ / 200_

Colesterol total: _____ mg/dl. Triglicéridos: _____ mg/dl

Posteriormente a la intervención quirúrgica, revisar de historia clínica:

Anatomía patológica (estadiaje RTUv): (*anotar los resultados de la anatomía patológica disponible MÁS CERCANA a la fecha de la entrevista*): T ___ G ___ N

—

Grapar a la encuesta el informe con los resultados de COP e IGF-1

ANEXO III

Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs):

1. Acenafteno
2. Acenaftileno
3. Antraceno
4. Benzoantraceno
5. Benzo(a)pireno
6. Benzofluoranteno
7. Benzo(k)fluoranteno
8. Benzoperileno
9. Criseno
10. Dibenzoantraceno
11. Fluorano
12. Fenantreno
13. Fluoranteno
14. Indeno pireno
15. Naftaleno
16. Pireno

Compuestos organoclorados

Compuestos poliaromáticos clorados

17. para,para-Dicloro Difenil Tricloroetano (4,4-DDT)
18. para,para-Dicloro Difenil Dicloroetileno (4,4-DDE)
19. para,para- Dicloro Difenil Dicloroetano (4,4-DDD)
20. Metoxicloro

Compuestos de tipo hexaclorociclohexano

21. Hexaclorociclohexano alfa (HCH alfa)
22. Hexaclorociclohexano beta (HCH beta)
23. Hexaclorociclohexano gamma (HCH gamma)
24. Hexaclorociclohexano delta (HCH delta)

Ciclodienos

25. Aldrina
26. Dieldrina
27. Endrina
28. Heptacloro
29. Clordano cis
30. Clordano-trans
31. Endosulfán alfa
32. Endosulfán beta
33. Endosulfán-sulfato
34. Mírex

Otros

Hexaclorobenceno (HCB)

Bifenilos policlorados (PCBs):

PCBs marcadores

35. PCB-28
36. PCB-52
37. PCB-101
38. PCB-118
39. PCB-138
40. PCB-153
41. PCB-180

PCB de tipo dioxin-like (non-ortho)

42. PCB-77
43. PCB-81
44. PCB-126
45. PCB-169

PCB de tipo dioxin-like (mono-ortho)

46. PCB-105

47. PCB-114

39. PCB-118

48. PCB-123

49. PCB-156

50. PCB-157

51. PCB-167

52. PCB-189

ANEXO IV



ELSEVIER

Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations xx (2011) xxx

UROLOGIC
ONCOLOGY

Original article

Polymorphisms of glutathione S-transferase and , MDR1 and VEGF genes as risk factors of bladder cancer: A case-control study

Luis Alberto Henríquez-Hernández, Ph.D.^{a,c,1}, Patricio Navarro, M.D.^{b,c},
Octavio P. Luzardo, Ph.D.^{a,c}, Eva Elisa Álvarez-León, M.D., Ph.D.^{c,e},
Luis D. Boada, M.D., Ph.D.^{a,c}, Manuel Zumbado, Ph.D.^{a,c}, Jose Pestano, Ph.D.^{d,e},
Javier R. Suárez,^{d,e}, Nicolás Chesa, M.D., Ph.D.^{b,c}, Maira Almeida, Ph.D.^{a,c},
Pilar F. Valerón, Ph.D.^{d,e,*}

^a Toxicology Unit, Clinical Sciences Department, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

^b Urology Service, Complejo Hospitalario Insular-Materno Infantil, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

^c Preventive Medicine Service, Complejo Hospitalario Insular-Materno Infantil, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

^d Genetic Unit, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology Department, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

^e Instituto Canario de Investigación del Cáncer (ICIC), Las Palmas de Gran Canaria, Spain

Received 12 May 2010; received in revised form 27 August 2010; accepted 30 August 2010

Abstract

Objective: The present study was aimed at examining the local distribution of GSTM1, GSTT1, MDR1, and VEGF gene polymorphisms as possible risk factors contributing to the development of bladder cancer among the population from Canary Islands, Spain.

Materials and methods: The genotypes were determined by PCR-based methods in a hospital-based case-control study consisting of 119 cases and 110 controls. The socio-demographic and clinicopathologic data were collected, including the smoking habits of the population covered in the study.

Results: The observed allelic frequencies were (%): GSTM1-GSTT1, (positive) 54 and (null) 46 in cases, and 65 and 35, respectively, in controls ($P = 0.144$); MDR1 C3435T, (C) 57 and (T) 43 in cases, and 54 and 46, respectively, in controls ($P = 0.633$); VEGF A2578C, (A) 40 and (C) 60 in cases, and 51 and 49, respectively, in controls ($P = 0.221$). Among Canary Islands subjects, GSTT1-null genotype appeared as a significant risk factor for bladder cancer (odds ratio (OR) 2.0; 95% confidence interval (CI), 1.0–3.7; $P = 0.041$), in multivariate analysis adjusted by age and smoking habits. No statistical changes in genotype distribution of GSTM1, MDR1 C3435T, and VEGF A2578C gene polymorphisms were observed between cases and controls. The distribution of the initial clinical stage, clinical grade, or recurrence status was not significantly different among the polymorphic variants in the case group ($P = NS$).

Conclusions: Subjects with the GSTT1-null genotype might be at an increased risk of bladder cancer in Canary Islands, Spain. However, extensive studies are required for accurate confirmation of these results. © 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Bladder cancer; Genetic polymorphism; GSTM1; GSTT1; MDR1; VEGF; Risk factor

1. Introduction

Worldwide, bladder cancer is recognized as the ninth most common cancer, with statistics showing 357,000 newly diagnosed cases and 145,000 related deaths for both genders in 2002 [1]. The prevalence and incidence of this pathology are unknown in Canary Islands. Bladder cancer caused 4% of the total cancer deaths in this region in 2005 (www.gobiernodecanarias.org/istac). However, the precise reason why only specific individuals get bladder cancer

This work was supported by FUNCIS PI 35/08 and FUNCIS PI 55/07 of the Gobierno de Canarias (Spain), and ICIC PI 19/08.

* Corresponding author. Tel.: 34-928-451-091; fax: 34-928-451-461.

E-mail address: jfernandez@dbbf.ulpgc.es (P.F. Valerón).

¹ L.A.H.-H. is the recipient of a grant from Fundación del Instituto Canario de Investigación del Cáncer (Spain).

1078-1439/\$ – see front matter © 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.
doi:10.1016/j.urolonc.2010.08.028